

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7408098号
(P7408098)

(45)発行日 令和6年1月5日(2024.1.5)

(24)登録日 令和5年12月22日(2023.12.22)

(51)国際特許分類

C 1 2 N	15/54 (2006.01)	F I	C 1 2 N	15/54	Z N A
C 1 2 N	9/12 (2006.01)		C 1 2 N	9/12	
C 1 2 Q	1/48 (2006.01)		C 1 2 Q	1/48	Z
C 1 2 Q	1/6844(2018.01)		C 1 2 Q	1/6844	Z
C 1 2 P	19/34 (2006.01)		C 1 2 P	19/34	A

請求項の数 19 (全239頁)

(21)出願番号	特願2020-509060(P2020-509060)
(86)(22)出願日	平成30年8月17日(2018.8.17)
(65)公表番号	特表2020-532963(P2020-532963)
	A)
(43)公表日	令和2年11月19日(2020.11.19)
(86)国際出願番号	PCT/US2018/046989
(87)国際公開番号	WO2019/036682
(87)国際公開日	平成31年2月21日(2019.2.21)
審査請求日	令和3年8月17日(2021.8.17)
(31)優先権主張番号	62/547,677
(32)優先日	平成29年8月18日(2017.8.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)
(31)優先権主張番号	62/628,484
(32)優先日	平成30年2月9日(2018.2.9)

最終頁に続く

(73)特許権者	513084469 モデルナティエックス インコーポレイ テッド M o d e r n a T X , I n c . アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチュー セツツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 2 0 0
(74)代理人	100188558 弁理士 飯田 雅人
(74)代理人	100195796 弁理士 塩尻 一尋
(72)発明者	エイミー・イー・ラビドー アメリカ合衆国・マサチューセツツ・0 2 4 5 1 ・ ウォルサム・pond・ストリ ート・1 2 1 ・ ユニット・1

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 RNAポリメラーゼバリアント

(57)【特許請求の範囲】**【請求項1】**

T 7 リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼバリアントであって、配列番号1と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、野生型T 7 RNAポリメラーゼと比較して、前記T 7 RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて前記T 7 RNAポリメラーゼバリアントのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせるアミノ酸置換を含み、前記アミノ酸置換がG 47位のアラニン (G 47 A) である、前記リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼバリアント。

【請求項2】

前記ループ構造が、Cヘリックス構造中にある、請求項1に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項3】

前記ループ構造が、Cリンカー構造中にある、請求項1に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項4】

前記T 7 RNAポリメラーゼが、E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、A 2 5 5、R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及びA 2 6 2から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換をさらに含むように修飾された配列番号

1と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1から3のいずれか一項に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項5】

E42、S43、Y44、E45、M46、A255、R257、A258、G259、A260、L261、及びA262から選択される少なくとも1つの位置にアミノ酸置換をさらに含むように修飾された配列番号1と少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項4に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項6】

前記アミノ酸置換が、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及びグルタミン酸から選択される、請求項4又は5に記載のRNAポリメラーゼバリアント。 10

【請求項7】

前記アミノ酸置換が、アラニン(S43A)である、請求項6に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項8】

追加のC末端アミノ酸をさらに含む、請求項1～7のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項9】

前記追加のC末端アミノ酸が、グリシン(G)を含む、請求項8に記載のRNAポリメラーゼバリアント。 20

【請求項10】

前記RNAポリメラーゼバリアントが、配列番号110のアミノ酸配列を含む、請求項3に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項11】

F A F A X_n(配列番号171)モチーフを含むC末端を含み、Xが任意のアミノ酸であり、nがゼロより大きい任意の整数である、請求項8に記載のRNAポリメラーゼバリアント。

【請求項12】

X A F A X_nモチーフ、F X F A X_nモチーフ、F A X A X_nモチーフ、またはF A F X X_nモチーフを含むC末端を含み、各Xが任意のアミノ酸であり、nはゼロより大きい任意の整数である、請求項11に記載のRNAポリメラーゼバリアント。 30

【請求項13】

RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を請求項1～12のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリアントと接触させることを含む、リボ核酸(RNA)を生成する方法。

【請求項14】

RNA転写物の生成をもたらす条件下で、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、DNA鑄型を請求項1～12のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリアントと接触させることを含む、インビトロ転写(IVT)反応を行う方法。 40

【請求項15】

請求項1～12のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリアントをコードする核酸。

【請求項16】

請求項1～12のいずれか1項に記載のRNAポリメラーゼバリアント及び任意選択によりインビトロ転写(IVT)試薬を含む、組成物またはキット。

【請求項17】

RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を請求項1～12のいずれか一項に記載のT7 RNAポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む、リボ核酸(RNA)合成の50

ための共転写キャッピング方法。

【請求項 1 8】

前記キャップ類似体が、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである、請求項 1_7に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記トリヌクレオチドキャップが、G p p p A₂ o m e p Gである、請求項 1_8に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願

本出願は、2017年8月18日に出願された米国仮出願第62/547,677号、2018年2月9日に出願された米国仮出願第62/628,484号、及び2018年3月5日に出願された米国仮出願第62/638,684号、2018年5月29日に出願された米国仮出願第62/677,527号の35U.S.C. § 119(e)下の利益を主張し、それらの各出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

【背景技術】

【0 0 0 2】

インビトロ転写 (IVT) は、バクテリオファージDNA依存性リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼ (例えば、SP6、T3、及びT7) を使用して、鑄型に対するmRNA転写物を合成する。IVT反応における問題により、完全な失敗 (例えば、転写物が生成しない) またはサイズが正しくない (例えば、予想よりも短いまたは長い) 転写物となり得る。IVT反応に関連する特定の問題には、例えば、アボーティブ (abortive) (切断型) 転写物、ランオン (run-on) 転写物、ポリアテールバリエント / 3' 不均一性 (heterogeneity)、変異転写物、及び / または反応中に生成される二本鎖混入物が含まれる。

20

【0 0 0 3】

RNAポリメラーゼは、転写の3つの段階 - 開始、伸長、及び終了を示す。開始段階では、RNAポリメラーゼは、特定のプロモーターDNA配列に結合し、DNA二重鎖を開かせ、鑄型鎖を活性部位へと供給する。例えば、T7 RNAポリメラーゼは、プロモーターと相互作用してDNA二重鎖融解を開始する6つのヘリックス束のサブドメイン (プロモーター結合ドメイン) を含む開始複合体と呼ばれる構造を形成する。ポリメラーゼは、プロモーターに結合している間、2~12ヌクレオチド (nt) の長さの短い多くの (切断型) 転写物を生成し、プロセスはしばしばアボーティブ合成 / 開始と呼ばれる。切断型RNA転写物は、RNAポリメラーゼによって完全長の転写物に変換され得ず、転写中に蓄積する副産物となる。伸長段階への移行及びプロモーターのリリース後、ポリメラーゼは、DNA鑄型へと働きかけ、完全長RNA転写物を生成する。

30

【0 0 0 4】

伸長段階の間、RNAポリメラーゼはしばしば、終了が開始されるべき位置を超えてDNAを転写し続け、予想よりも長いRNA転写物 (「ランオン転写物」) を生成する。T7 RNAポリメラーゼは、例えば、鑄型から「フォーリングオフする (falling off)」前に、ヌクレオチドを転写物の末端に追加する。研究では、T7 RNAポリメラーゼによってインビトロで生成された転写物の70%超がランオン転写物であり得ることが示唆されている。いくつかの場合では、これらの異常なRNA産物は、コードされた配列の2倍の長さである。ランオン転写は推計学的であるため、所与のIVT反応における生成物中に多くの3'不均一性がしばしば存在する。この3'不均一性は、規定の長さ及び / またはヌクレオチド組成のRNA転写物に依存するライゲーション反応などの下流での用途において問題になる。

40

【発明の概要】

【0 0 0 5】

50

転写開始の際、RNAポリメラーゼは2つの相反する段階の平衡を保つ。ポリメラーゼはまず、2つのDNA鎖（そのうちの1つは鋳型鎖である）の解離を可能にするのに十分にしっかりとプロモーターと結合し、転写を開始する必要がある。次いで、ポリメラーゼはプロモーターをリリースし、高度にプロセッシブな（processive）伸長段階に入る必要がある。これらの2つの段階の間の競合により、アボーティブな転写物が生成する。ポリメラーゼは繰り返しプロモーターを除こうとするが、移行障壁を克服することができず、短い（アボーティブな）RNA産物を放出する。逆に、ポリメラーゼはしばしばDNA鋳型を「ランオフ」せず、3'不均一性を有するRNA転写物の集団を生成する。例えば、インビトロ転写（IVT）反応において生成される転写効率及び3'均一性を増加させるバリアントRNAポリメラーゼ、ランオン転写物、二本鎖混入物、またはそれらの任意の組み合わせが本明細書で提供される。

【0006】

開始から伸長への移行中に、RNAポリメラーゼは、アミノ末端ドメイン（N末端ドメイン）の大きな再配列を必要とするコンフォメーション変化を受ける（例えば、Bandwar, R.P. et al. *Journal of Biological Chemistry* 282, 22879 - 22886 (2009); Guillerez, J. et al. *Proc National Acad Sci* 102, 5958 - 5963 (2005); Durniak, K. et al. *Science (New York, N.Y.)* 322, 553 (2008)；及びTahirov, T.H. et al. *Nature* 420, 43 - 50 (2002)を参照のこと、これらの各々は参考により本明細書に組み込まれる）。このN末端ドメイン内には、「Cヘリックス」（例えば、T7 RNAポリメラーゼのアミノ酸28～71）及び「Cリンカー」（例えば、T7 RNAポリメラーゼのアミノ酸258～266）があり、その各々が、RNAポリメラーゼが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて、プロモーター結合部位が廃棄され、活性部位が拡張され、RNA転写物の出口トンネルが作出される、ループ構造からヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けるサブ領域（それぞれ、アミノ酸42～47及び257～262）を含む（例えば、図10を参照のこと）。Cヘリックス構造のサブ領域及び/またはCリンカーのリンカー領域に対する変異は、開始複合体と比較して伸長複合体の熱力学的安定性を高めることにより、伸長複合体に対するコンフォメーション平衡を推進し得る。理論に縛られることなく、Cヘリックス構造及び/またはCリンカーのリンカー領域などの選択領域の変異は、伸長中にポリメラーゼの出口トンネルが転写物と相互作用する方法を変化させることができ、転写エラー（例えば、ランオン転写物）を大幅に減少させると考えられている。したがって、本開示のバリアントポリメラーゼは、Cヘリックス及び/またはCリンカーにおいて、伸長複合体に対するコンフォメーション平衡を推進するための（少なくとも1つの）変異を含む。

【0007】

本明細書で提供されるように、ポリメラーゼが開始から伸長に進むにつれてヘリックス構造に移行するループ構造を含むN末端ドメインの他の領域は、変異され得る（置換と呼ばれる、点変異）。そのようなループ-ヘリックス（loop - helix）領域の非限定的な例には、T7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1）のアミノ酸55～73、164～169、もしくは176～187に及ぶ領域、または前述の領域と相同である（例えば、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一である）他の単一サブユニットRNAポリメラーゼの領域（例えば、Cermakian, N. et al. *J Mol Evol* 45, 671 - 681 (1997)を参照のこと）を含む。他の単一サブユニットRNAポリメラーゼの非限定的な例には、T3 RNAポリメラーゼ、K11 RNAポリメラーゼ、及びSP6 RNAポリメラーゼが含まれる。

【0008】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアント（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアント）は、高ヘリックス性向を有する残基（例えば、アラニン）か、また

10

20

30

40

50

は骨格柔軟性を伸長複合体の骨格柔軟性に特異的に一致させる残基に対する変異を含む。

【0009】

ポリメラーゼのC末端に少なくとも1つの追加のアミノ酸を含むRNAポリメラーゼバリアントが本明細書でさらに提供される。例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアントは、ポリメラーゼのC末端に、追加のグリシン(G)などの少なくとも1つの追加のアミノ酸を含み得る。驚くべきことに、C末端「足(foot)」領域(例えば、野生型T7 RNAPの880～883位に「FAFA」(配列番号172)アミノ酸を含む領域)に追加のGを含むように修飾されたT7 RNAポリメラーゼを使用して生成されたRNA転写物の集団は、より少ない3'不均一性を示す。例えば、図23に示すように、C末端グリシン(すなわち、...FAG(配列番号329))を含むT7 RNAポリメラーゼバリアントは、転写物の少なくとも85%が3'末端において均一であるRNA転写物集団を生成する。これまでの研究では、C末端の付加/挿入によりT7ポリメラーゼの機能が失われることが示されていることを考慮すると、このデータは特に予想外である(Gardner LP, et al. Biochemistry 36, 2908-2918 (1997)及びGross L, et al. Journal of Molecular Biology 228, 488-505 (1992))。

【0010】

本明細書に記載されているT7 RNAポリメラーゼバリアント(例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47AまたはG47A* C末端バリアント)を使用したインビトロ転写アッセイにおいて、ssRNA(例えば、mRNA)をキャップ類似体(例えば、トリヌクレオチド)で共転写(co-transcriptionally)キャッピングする方法(共転写キャッピング方法)もまた、本明細書で提供される。効率的な共転写キャッピングには、通常、5'ATPならびに等モル濃度のNTP及びトリヌクレオチドを用いて転写を開始する二本鎖DNA(dsDNA)鑄型が含まれる。これらの条件下で、T7 RNAポリメラーゼは、5'ATPを用いると開始活性が著しく低下する。予想外に、本明細書で提供されるデータは、GAGトリヌクレオチド(例えば、m⁷GpppA₂OMe²G)の存在下において、例えば、5'ATPを用いたT7 RNAポリメラーゼの限定された開始活性は、5'ATPではなくトリヌクレオチドで開始が推進され、キャップされたRNAを共転写で生成する。驚くべきことに、いくつかの実施形態では、生成されたRNAの90%超が一本鎖完全長転写物を含み、生成されたRNAの少なくとも90%が機能性キャップを含み、生成されたRNAがIVT後に精製なしでも実質的なサイトカイン応答を示さない。

【0011】

したがって、本開示のいくつかの態様は、野生型RNAポリメラーゼと比較して、RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリアントの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、RNAポリメラーゼバリアントを提供する。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、開始複合体よりも伸長複合体においてフォールディング自由エネルギーの負の変化が大きいと推定される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、野生型アミノ酸と比較して、高いヘリックス性向を有する。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、C末端に(少なくとも1つの)追加のアミノ酸残基を含む。例えば、RNAポリメラーゼバリアント(例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアント)は、C末端にグリシン(G)を含み得る。

【0012】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、T7 RNAポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、T3 RNAポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、SP6 RNAポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、K11 RNAポリメラーゼである。

【0013】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのループ構造が、Cヘリックス構造中にある。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのループ構造が、Cリンカー構造中にある。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのループ構造が、T7 RNAポリメラーゼのアミノ酸55～73、164～169、もしくは176～187、またはT7 RNAポリメラーゼに相同的なRNAポリメラーゼ内の領域に存在する。

【0014】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換である。例えば、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸から選択され得る。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、アラニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、イソロイシンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、ロイシンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、アルギニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、メチオニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、リジンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、グルタミンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、グルタミン酸である。

【0015】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、E42（例えば、E42R）、S43（例えば、S43A）、Y44（例えば、Y44A）、E45（例えば、E45R/L）、M46（例えば、M46A）、G47（例えば、G47A）、A255（例えば、A255K/Q/Y/I）、R257（例えば、R257A）、A258（例えば、A258R/E/L）、G259（例えば、G259A）、A260（例えば、A260R/E/L）、L261（例えば、L261A）及びA262（例えば、A262R/E/L）から選択される少なくとも1つの位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾される。T7 RNAポリメラーゼは、いくつかの実施形態では、（少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換に加えて）1つ以上の追加のアミノ酸置換をさらに含み得る。したがって、本開示は、本明細書で提供される1つ以上の高ヘリックス性向アミノ酸置換を有する既存の（例えば、現在入手できる及び／または市販の）T7 RNAポリメラーゼバリエントのさらなる修飾を包含する。

【0016】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、E42（例えば、E42R）、S43（例えば、S43A）、Y44（例えば、Y44A）、E45（例えば、E45R/L）、M46（例えば、M46A）及びG47（例えば、G47A）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、S43Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G47Aを含む。

【0017】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、E42（例えば、E42R）、S43（例えば、S43A）、Y44（例えば、Y44A）、E45（例えば、E45R/L）、M46（例えば、M46A）及びG47（例えば、G47A）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、または配列番号296のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、S43Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G47Aを含む。

【0018】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、T₇ RNAポリメラーゼは、A255（例えば、A255K / Q / Y / I）、R257（例えば、R257A）、A258（例えば、A258R / E / L）、G259（例えば、G259A）、A260（例えば、A260R / E / L）、L261（例えば、L261A）及びA262（例えば、A262R / E / L）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、R257Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G259Aを含む。

【0019】

いくつかの実施形態では、T₇ RNAポリメラーゼは、A255（例えば、A255K / Q / Y / I）、R257（例えば、R257A）、A258（例えば、A258R / E / L）、G259（例えば、G259A）、A260（例えば、A260R / E / L）、L261（例えば、L261A）及びA262（例えば、A262R / E / L）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、または配列番号296のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、R257Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G259Aを含む。

【0020】

いくつかの態様では、位置G47、S43、R257、またはG259に高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸）のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1のアミノ酸配列を含むT₇ RNAポリメラーゼもまた、本明細書で提供される。いくつかの態様では、位置G47、S43、R257、またはG259に高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸）のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、または配列番号296のアミノ酸配列を含むT₇ RNAポリメラーゼがさらに提供される。

【0021】

いくつかの実施形態では、本開示のT₇ RNAポリメラーゼは、配列番号2、配列番号3、配列番号4、または配列番号5のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本開示のT₇ RNAポリメラーゼは、配列番号107もしくは108、配列番号109もしくは110、配列番号111もしくは112、または配列番号113もしくは114のアミノ酸配列を含む。

【0022】

いくつかの実施形態では、T₇ RNAポリメラーゼは、少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、T₇ RNAポリメラーゼは、少なくとも2つの追加のC末端アミノ酸を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、少なくとも2つの追加のC末端アミノ酸は、同じ種類のアミノ酸（例えば、すべてG1y、すべてA1a）を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも2つの追加のC末端アミノ酸は、少なくとも2つの異なる種類のアミノ酸（例えば、G1y A1a、A1a G1y）を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、T₇ RNAポリメラーゼは、少なくとも3つの追加のC末端アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも3つの追加のC末端アミノ酸は、少なくとも2つもしくは少なくとも3つの同じ種類または異なる種類のアミノ酸（例えば、G1y G1y G1y、A1a A1a A1a）を含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、T₇ RNAポリメラーゼは、1～10個（例えば、1、2

10

20

30

40

50

、3、4、5、6、7、8、9、または10個)の追加のC末端アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、1~5つの追加のC末端アミノ酸を含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼはF A F A X_n (配列番号171)モチーフを含むC末端を含み、Xは任意のアミノ酸であり、nはゼロより大きい任意の整数である。いくつかの実施形態では、Xはグリシン(G)である。いくつかの実施形態では、nは1、2、3、4、または5である。nが1より大きく、したがって、C末端モチーフは、例えばF A F X X、F A F A X X X (配列番号319)、F A F A X X X X (配列番号320)、またはF A F A X X X X X (配列番号321)である実施形態では、例えば、X'が同じアミノ酸であり得、または異なるアミノ酸であり得ると理解されるべきである。例えば、C末端モチーフは、F A F A G G (配列番号322)もしくはF A F A G G G (配列番号323)であってもよく、またはC末端モチーフは、F A F A G A (配列番号324)、F A F A G C (配列番号325)、F A F A G A A (配列番号326)、F A F A G A G (配列番号327)、F A F A G A C (配列番号328)などであり得る。他のC末端アミノ酸の組み合わせを使用し得る。

10

【0027】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、F A F A G (配列番号329)モチーフを含むC末端を含む。

20

【0028】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、X A F A X_nモチーフ、F X F A X_nモチーフ、F A X A X_nモチーフ、またはF A F X X_nモチーフを含み、各Xは任意のアミノ酸であり、nはゼロより大きい任意の整数である。したがって、本開示は、様々なC末端、F₈₈₀A₈₈₁F₈₈₂A₈₈₃ (配列番号172)モチーフを含み、880位、881位、882位、または883位のうちの1つ以上のアミノ酸(例えば、野生型T7 RNAPと比較して、例えば、配列番号1)が、追加のC末端アミノ酸(X_n)の有無にかかわらず、少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾されている。

【0029】

いくつかの態様では、本開示は、対応する野生型RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸を含む、RNAポリメラーゼを提供する。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、T7 RNAポリメラーゼ、T3 RNAポリメラーゼ、及びSP6 RNAポリメラーゼから選択される。

30

【0030】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、少なくとも1つの追加のアミノ酸置換をさらに含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、G47A、S43A、R257A、及びG259Aから選択される配列番号1のアミノ酸置換に対応するアミノ酸置換をさらに含む。

【0031】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、43±1(例えば、42、43、または44)位、47±1(例えば、46、47、または48)位、257±1(例えば、256位、257位、または258)位、及び/または259±1(例えば、258位、259位、または260)位にアミノ酸を含むように修飾された、配列番号1と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン(A)である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、野生型T7 RNAポリメラーゼの43±1位、47±1位、257±1位、及び/または259±1位(配列または構造アライメントに基づく)に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号6と少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含むT3 RNAポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン(A)である。いくつかの実施形態では、野生型T7 RNAポリメラーゼの

40

50

4 3 ± 1 位、 4 7 ± 1 位、 2 5 7 ± 1 位， 及び / または 2 5 9 ± 1 位（配列または構造アライメントに基づく）に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を含む S P 6 R N A ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。

【 0 0 3 2 】

本開示のいくつかの態様は、4 3 位、4 7 位、2 5 7 位，及び / または 2 5 9 位にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を含む T 7 R N A ポリメラーゼを提供し、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。 10

【 0 0 3 3 】

本開示の他の態様は、野生型 T 7 R N A ポリメラーゼの 4 3 位、4 7 位、2 5 7 位，及び / または 2 5 9 位に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を含む T 3 R N A ポリメラーゼを提供し、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。したがって、いくつかの実施形態では、T 3 R N A ポリメラーゼは、4 4 位、4 8 位、2 5 8 位，及び / または 2 6 0 位にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。

【 0 0 3 4 】

本開示のさらに他の態様は、野生型 T 7 R N A ポリメラーゼの 4 3 位、4 7 位、2 5 7 位，及び / または 2 5 9 位に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を含む S P 6 R N A ポリメラーゼを提供し、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。したがって、いくつかの実施形態では、S P 6 T N A ポリメラーゼは、1 5 位、1 9 位、2 3 0 位，及び / または 2 3 2 位にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。 20

【 0 0 3 5 】

本開示はまた、R N A 転写物の生成をもたらす条件下で（例えば I V T 条件下で）、D N A 鑄型を本明細書に記載の R N A ポリメラーゼバリアントと接触させることを含む、R N A の生成方法を提供する。 30

【 0 0 3 6 】

本開示は、ヌクレオシド三リン酸（N T P）及び緩衝液の存在下において、R N A 転写物の生成をもたらす条件下で、D N A 鑄型を本明細書で提供される R N A ポリメラーゼバリアントと接触させることを含む、I V T 反応を行う方法をさらに提供する。

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物は、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、同じ I V T 条件下で野生型 R N A ポリメラーゼを使用して生成された R N A と比較して、少なくとも 5 0 %（例えば、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %）低いサイトカイン応答を刺激する。 40

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施形態では、I V T により生成された d s R N A 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された d s R N A 転写物と比較して、少なくとも 5 0 %（例えば、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 8 %）低い。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 2 0 % 未満（例えば、1 5 % 未満、1 0 % 未満、5 % 未満）が 3' 不均一性を示す。 50

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 5 0 % 未満（例えば、4 0 % 未満、3 0 % 未満、2 0 % 未満、1 0 % 未満）が切断型 R N A 転写物である。

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 5 0 % 未満（例えば、4 0 % 未満、3 0 % 未満、2 0 % 未満、1 0 % 未満）がランオン R N A 転写物である。

【 0 0 4 2 】

いくつかの態様では、生成された全長 R N A 転写物の量が、D N A 鑄型の量よりも少なくとも 1 5 倍大きい。

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態では、切断型 R N A 転写物：生成された完全長 R N A 転写物の比率が、1 : 1 未満である。

10

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物は、D N A 鑄型と比較して 1 0 0 又クレオチドあたり 1 未満の変異を有する。

【 0 0 4 5 】

本開示は、いくつかの態様では、R N A ポリメラーゼバリアントをコードする核酸を提供し、いくつかの実施形態では、該核酸を含むベクター（例えばプラスミド）及び／または宿主細胞（例えば哺乳動物細胞、例えばヒト細胞）を提供する。

【 0 0 4 6 】

本開示の方法により生成された R N A 転写物も提供される。いくつかの実施形態では、R N A 転写物（例えば、m R N A ）は、脂質ナノ粒子中に製剤化される。脂質ナノ粒子は、例えば、2 0 ~ 6 0 % のイオン化可能なアミノ脂質、5 ~ 2 5 % の非カチオン性脂質、2 5 ~ 5 5 % のステロール、及び 0 . 5 ~ 1 5 % の P E G 修飾脂質のモル比を含み得る。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、2 0 1 7 年 4 月 2 7 日に公開された W O 2 0 1 7 / 0 7 0 6 2 4 を参照のこと。

20

【 0 0 4 7 】

R N A ポリメラーゼバリアントを含む他の組成物及びキットが本明細書で包含される。

【 0 0 4 8 】

リボ核酸（R N A ）合成のための共転写キャッピング方法であって、R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を T 7 R N A ポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む方法も本明細書で提供される。

30

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 8 0 % 超、8 5 % 超、または 9 0 % 超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 9 5 % 超が機能性キャップを含む。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、ヌクレオシド三リン酸は、非修飾もしくは修飾 A T P 、修飾もしくは非修飾 U T P 、修飾もしくは非修飾 G T P 、及び／または修飾もしくは非修飾 C T P を含む。

40

【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、E 4 2 、 S 4 3 、 Y 4 4 、 E 4 5 、 M 4 6 、 G 4 7 、 A 2 5 5 、 R 2 5 7 、及び G 2 5 9 から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 のアミノ酸配列（または配列番号 1 と 9 0 % ~ 9 9 % 、例えば少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 6 % 、少なくとも 9 7 % 、少なくとも 9 8 % 、もしくは少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列）を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、G 4 7 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 のアミノ酸配列（または配列番号 1 と 9 0 % ~ 9 9 % 、例えば少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列）を含む。

50

%、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、S 4 3 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 のアミノ酸配列(または配列番号 1 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。

【0052】

いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、G 4 7、A 2 5 5、R 2 5 7、及び G 2 5 9 から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも 9 9 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 9 9 のアミノ酸配列(または配列番号 9 9 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、G 4 7 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 9 9 のアミノ酸配列(または配列番号 9 9 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、S 4 3 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 9 9 のアミノ酸配列(または配列番号 9 9 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。

10

【0053】

いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、G 4 7、A 2 5 5、R 2 5 7、及び G 2 5 9 から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも 1 0 0 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列(または配列番号 1 0 0 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、G 4 7 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列(または配列番号 1 0 0 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリアントは、S 4 3 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列(または配列番号 1 0 0 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 %の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。

20

【0054】

いくつかの実施形態では、ヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体は、反応において等モル濃度で存在する。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1 : 1 より大きい。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1 : 1 未満である。

30

【0055】

いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、トリヌクレオチドキャップである。

40

【0056】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列：G A A、G A C、G A G、G A U、G C A、G C C、G C G、G C U、G G A、G G C、G G G、G G U、G U A、G U C、G U G、及び G U U から選択される配列を含む。

【0057】

50

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： $m^7GpppApA$ 、 $m^7GpppApC$ 、 $m^7GpppApG$ 、 $m^7GpppApU$ 、 $m^7GpppCpA$ 、 $m^7GpppCpC$ 、 $m^7GpppCpG$ 、 $m^7GpppCpU$ 、 $m^7GpppGpA$ 、 $m^7GpppGpC$ 、 $m^7GpppGpG$ 、 $m^7GpppGpU$ 、 $m^7GpppUpA$ 、 $m^7GpppUpC$ 、 $m^7GpppUpG$ 、及び $m^7GpppUpU$ から選択される配列を含む。

【0058】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： $m^7G_3OMEpppApA$ 、 $m^7G_3OMEpppApC$ 、 $m^7G_3OMEpppApG$ 、 $m^7G_3OMEpppApU$ 、 $m^7G_3OMEpppCpA$ 、 $m^7G_3OMEpppCpC$ 、 $m^7G_3OMEpppCpG$ 、 $m^7G_3OMEpppCpU$ 、 $m^7G_3OMEpppGpA$ 、 $m^7G_3OMEpppGpC$ 、 $m^7G_3OMEpppGpG$ 、 $m^7G_3OMEpppGpU$ 、 $m^7G_3OMEpppUpA$ 、 $m^7G_3OMEpppUpC$ 、 $m^7G_3OMEpppUpG$ 、及び $m^7G_3OMEpppUpU$ から選択される配列を含む。 10

【0059】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： $m^7G_3OMEpppA_2OMEpA$ 、 $m^7G_3OMEpppA_2OMEpC$ 、 $m^7G_3OMEpppA_2OMEpG$ 、 $m^7G_3OMEpppA_2OMEpU$ 、 $m^7G_3OMEpppC_2OMEpA$ 、 $m^7G_3OMEpppC_2OMEpC$ 、 $m^7G_3OMEpppC_2OMEpG$ 、 $m^7G_3OMEpppC_2OMEpU$ 、 $m^7G_3OMEpppG_2OMEpA$ 、 $m^7G_3OMEpppG_2OMEpC$ 、 $m^7G_3OMEpppG_2OMEpG$ 、 $m^7G_3OMEpppG_2OMEpU$ 、 $m^7G_3OMEpppU_2OMEpA$ 、 $m^7G_3OMEpppU_2OMEpC$ 、 $m^7G_3OMEpppU_2OMEpG$ 、及び $m^7G_3OMEpppU_2OMEpU$ から選択される配列を含む。 20

【0060】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： m^7GpppA_2OMEpA 、 m^7GpppA_2OMEpC 、 m^7GpppA_2OMEpG 、 m^7GpppA_2OMEpU 、 m^7GpppC_2OMEpA 、 m^7GpppC_2OMEpC 、 m^7GpppC_2OMEpG 、 m^7GpppC_2OMEpU 、 m^7GpppG_2OMEpA 、 m^7GpppG_2OMEpC 、 m^7GpppG_2OMEpG 、 m^7GpppG_2OMEpU 、 m^7GpppU_2OMEpA 、 m^7GpppU_2OMEpC 、 m^7GpppU_2OMEpG 、及び m^7GpppU_2OMEpU から選択される配列を含む。 30

【0061】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： GAG 、 GCG 、 GUG 、及び GGG から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、配列 GAG を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7GpppA_2OMEpG を含む。

【0062】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド錠型は、錠型位置 + 1 に 2' - デオキシチミジン残基を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド錠型は、錠型位置 + 1 に 2' - デオキシシチジン残基を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド錠型は、錠型位置 + 1 に 2' - デオキシアデノシン残基を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド錠型は、錠型位置 + 1 に 2' - デオキシグアノシン残基を含む。 40

【0063】

RNA合成のための共転写キャッピング方法であって、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド錠型を(a) T7 RNAポリメラーゼバリアントであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリアントの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T7 RNAポリメラーゼバリアント、(b) 50

ヌクレオシド三リン酸、及び(c)配列G p p p A₂ O m e p Gを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含み、ポリヌクレオチド鋳型は、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む、該方法も本明細書で提供される。

【0064】

いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物は、任意選択により未精製の形態で細胞に送達されたときに、検出可能なサイトカイン応答を刺激しない。

【0065】

インビトロ転写(IVT)RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、IVT後の精製なしでサイトカイン誘導RNA混入物を実質的に含まない組成物が、本明細書でさらに提供される。

10

【0066】

組成物は、いくつかの実施形態では、IVT RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含み、該組成物は5%未満のキャップされていないRNA種を有する。

【0067】

いくつかの実施形態では、IVT RNAの80%超、85%超、または90%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの95%超が機能性キャップを含む。

【0068】

いくつかの実施形態では、IVT RNAは化学修飾されていない。他の実施形態では、IVT RNAは化学的に修飾されている。

20

【0069】

いくつかの実施形態では、IVT RNAの95%超が一本鎖完全長転写物を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、RNAは、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を(a)T₇ RNAポリメラーゼバリアントであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリアントの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T₇ RNAポリメラーゼバリアント、(b)ヌクレオシド三リン酸、及び(c)配列G p p p A₂ O m e p Gを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含むプロセスによって生成され、ポリヌクレオチド鋳型が、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。

30

【0071】

いくつかの態様では、本開示は、配列番号294～313のアミノ酸配列を含むT₇ RNAPバリアントを提供し、xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5(例えば、1、2、3、4、または5)である。

【0072】

いくつかの態様では、本開示は、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を本開示のRNAポリメラーゼバリアントと接触させることを含む、IVT反応を行う方法を提供する。いくつかの実施形態では、生成されたRNAは、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、野生型を使用して生成されたdsRNA転写物と比較して少なくとも50%低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、IVT反応により生成されたRNA転写物の30%未満が3'不均一性を示す。

40

【図面の簡単な説明】

【0073】

【図1】野生型(WT)T₇ポリメラーゼまたはT₇ポリメラーゼバリアントG47A*(C末端Gを有する)及びS43A*(C末端Gを有する)を使用して生成されたヒトエリスロポエチン(hEPO)mRNAの260nmでのHPLCクロマトグラムを示す。

【図2】左のパネルは、逆相(RP)精製ありまたは精製なしのWT T₇ RNAポリメ

50

ラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）の1つを使用して生成された化学修飾されていないhEPO RNA転写物でトランスフェクトされたBJ線維芽細胞におけるIFN応答を示すグラフを示す。右パネルは、トランスフェクトされた細胞におけるhEPO発現を示すグラフを示す。

【図3】上パネルは、逆相（RP）精製ありまたは精製なしのWT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）の1つを使用して生成された化学修飾されたhEPO RNA転写物（N1-メチルシュードウラシル（m¹）修飾）でトランスフェクトされたBJ線維芽細胞におけるIFN応答を示すグラフを示す。下パネルは、逆相（RP）精製ありまたは精製なしのWT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）の1つを使用して生成された化学修飾されたhEPO RNA転写物（5-メトキシ-ウリジン（m⁵U）修飾）でトランスフェクトされた細胞におけるIFN応答を示すグラフを示す。10

【図4】上パネル及び下パネルは、図3に使用したhEPO RNA転写物でトランスフェクトされた細胞におけるhEPO発現を示すグラフを示す。N1-メチルシュードウラシル（m¹）修飾hEPO発現は上グラフに示され、5-メトキシ-ウリジン（m⁵U）修飾hEPO発現は下グラフに示されている。

【図5】WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）を使用して生成された化学修飾されたhEPO RNA転写物でトランスフェクトされた単球由来マクロファージにおけるIP10応答を示すグラフを示す。20

【図6】上パネルは、WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）を使用して生成された化学修飾されたhEPO RNA転写物（N1-メチルシュードウラシル（m¹））でトランスフェクトされた単球由来マクロファージにおけるIP10応答を示すグラフを示す。下パネルは、WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）を使用して生成された、化学修飾されたhEPO RNA転写物（5-メトキシ-ウリジン（m⁵U））でトランスフェクトされた単球由来マクロファージにおけるIP10応答を示すグラフを示す。30

【図7】WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）を使用してIVT反応により生成された1μgの化学的に修飾されていないhEPO RNA転写物（左）または5μgの化学的に修飾されていないhEPO RNA転写物を使用してdsRNA E LISAを用いて検出された混入した二本鎖（ds）RNAの濃度を示すグラフを示す。

【図8】化学修飾されたhEPO RNA転写物（N1-メチルシュードウラシル（m¹）修飾、上；5-メトキシ-ウリジン（m⁵U）修飾、下）を用いてdsRNA E LISAを使用して検出された混入dsRNAの濃度を示すグラフを示す。40

【図9A】WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）を使用して生成されたhEPO RNA転写物のRNase T1テール消化から得られた質量クロマトグラム結果を示す。LCMS分析の結果を示す。

【図9B】WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントS43A*（C末端Gを有する）もしくはG47A*（C末端Gを有する）を使用して生成されたhEPO RNA転写物のRNase T1テール消化から得られた質量クロマトグラム結果を示す。図9Aの3'末端集団分布の定量化を示す。

【図10】T7 RNAポリメラーゼが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて、Cヘリックス及びCリンカーループ構造がコンフォメーションをCヘリックス及びCルー50

ペヘリックスへと変化する概略図を示す。PDB結晶構造1MSW及び1QLNから生成され、Molecular Operating Environment [Chemical Computing Group ULC]で描写した。

【図11A】リガーゼの存在下でDNAスプリント(DNA splint)を使用して、IVTによって生成された「レフトマー(leftmer)」RNA転写物を「ライトマー(rightmer)」蛍光標識ポリAシグナルにライゲーションする概略図を示す。ライゲーション部位における単一ヌクレオチドのオーバーハング(overhang)でさえ、ライゲーションを効率的になくす。

【図11B】WT T7 RNAポリメラーゼ及びT7 RNAポリメラーゼバリアントG47A* (C末端Gを有する)またはS43A* (C末端Gを有する)を用いて生成されたライトマーのライゲーション効率を示すPAGE-Dゲルである。
10

【図12】32P-GTPを使用してアボーティブ転写物を標識したまたは32P-CTPを使用して逆相補体を標識した放射性ゲルを示す。IVTは、短いモデル転写物を使用して行った。このデータは、T7 RNAポリメラーゼバリアントS43A* (C末端Gを有する)及びG47A* (C末端Gを有する)が逆補体形成を減少させることを実証している。

【図13】インビトロ転写によりキャップされたmRNAを生成する従来の方法の概略図である。

【図14A】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。ジヌクレオチドキャップ(ワクシニアキャップ1)またはトリヌクレオチドキャップ(GAGまたはGmA G)の例を示す。共転写キャッピングアッセイをトリヌクレオチドキャップアッセイで使用した。
20

【図14B】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。共転写キャッピングアッセイのmRNA収量を示す。

【図14C】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。共転写キャッピングアッセイで生成されたmRNAが高い完全性であることを示す。
30

【図14D】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。WT T7 RNAポリメラーゼによって生成されたキャップされたmRNAが、BJ線維芽細胞においてサイトカイン生成を誘導したが、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A* (C末端Gを有する)によって生成されたキャップされたmRNAは、驚くべきことに、サイトカイン生成を誘導しなかったことを示す。

【図14E】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。WT T7 RNAポリメラーゼによって生成されたキャップされたmRNAは、BJ線維芽細胞においてコードされたタンパク質(hEPO)を発現しなかったが、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A* (C末端Gを有する)によって生成されたキャップされたmRNAは、対照に匹敵するhEPO発現レベルをもたらした。対照は、WT T7 RNAポリメラーゼによって生成され、かつワクシニアキャップ1でキャップされたmRNAである。
40

【図15】共転写キャッピングアッセイで生成されたmRNAのLC質量分析の結果を示す。結果は、予想外にも、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A* (C末端Gを有する)がWT T7 RNAポリメラーゼよりも均質な(cleaner)mRNAを生成したことを示している。トリヌクレオチドが組み込まれる比率は、両方の酵素で同等のようであった。

【図16A】共転写キャッピングアッセイにおいて生成されかつGAGトリヌクレオチド

でキャップされたmRNAまたはワクシニアキャップ1を使用した標準キャッピングアッセイにおいてキャップされたmRNAのサイトカイン応答を比較するグラフである。

【図16B】共転写キャッピングアッセイにおいて生成されかつGAGトリヌクレオチドでキャップされたmRNAまたはワクシニアキャップ1を使用した標準キャッピングアッセイにおいてキャップされたmRNAの発現を比較するグラフである。

【図17】T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*及びトリヌクレオチドキャップm⁷GpppAp₂Ome_pGを使用した本明細書に記載の共転写キャッピングアッセイを示す概略図である。

【図18A】5'ATPまたは5'GTPで始まるmRNAのキャッピング効率の比較を示す液体クロマトグラフィー質量分析(LCMS)結果である。無傷のmRNAの分析を示す。

【図18B】5'ATPまたは5'GTPで始まるmRNAのキャッピング効率の比較を示す液体クロマトグラフィー質量分析(LCMS)結果である。RNase Hによって切断型mRNAの5'末端の分析を示す。

【図19A】3つのモデル構築物(hEPO、ルシフェラーゼ、及びeGFP)のPCR断片鑄型から生成された1-メチルシュードウリジンで化学修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。RNase T1フィンガープリンティングアッセイによって分析したところ、mRNAが同じ配列を有することを示す。

【図19B】3つのモデル構築物(hEPO、ルシフェラーゼ、及びeGFP)のPCR断片鑄型から生成された1-メチルシュードウリジンで化学修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNAが高度の完全性を有することを示す。

【図19C】3つのモデル構築物(hEPO、ルシフェラーゼ、及びeGFP)のPCR断片鑄型から生成された1-メチルシュードウリジンで化学修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNAがBJ線維芽細胞においてサイトカイン応答を誘導しなかったことを示す。

【図20A】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。hEPOプラスミドを鑄型として使用した共転写キャッピングアッセイにおけるNTP消費が示されている。

【図20B】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。eGFPプラスミドを鑄型として使用した共転写キャッピングアッセイにおけるNTP消費が示されている。

【図20C】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNA産物が高い完全性を有していることを示す。

【図20D】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNA産物のサイトカイン応答を示す。

【図20E】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。BJ線維芽細胞におけるhEPOをコードするmRNAの発現を示す。

【図20F】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。BJ線維芽細胞におけるルシフェラーゼ(Luc)をコードするmRNAの発現を示す。

【図20G】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鑄型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。BJ線維芽細胞におけるeGFPをコードするmRNAの発現を示す。

【図21】C末端グリシン(G)を含むT7 RNAPバリアントG47A*を使用して

10

20

30

40

50

生成されたmRNA転写物の85%（例えば、約90%）超が3'末端にヒドロキシル基を有することを示すグラフである。

【図22】WTまたはG47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸（例えば、1つもしくは2つのグリシン、または2つのアラニン）を含むIVT反応からの非修飾hEPO mRNA生成を示す。

【図23】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸（例えば、1つもしくは2つのグリシン、または2つのアラニン）を有する）を含むIVT反応からの1-メチル-シュードウリジン修飾hEPO mRNA生成を示す。

【図24A】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸（例えば、1つもしくは2つのグリシン、または2つのアラニン）を有する）を使用して生成されたhEPO mRNA転写物のRNase T1テール消化物の結果を示す。等モル濃度のNTPを有するWT T7 RNAP (WT EQ)、過剰なGTP及びATPを含むWT T7 RNAP (WTアルファ)、または追加のC末端グリシンを有し、等モル濃度のNTPを有するG47A* T7 RNAP (G47A* EQ)を使用したIVT反応から生成されたhEPO mRNAのLCMS分析の結果を示す。10

【図24B】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸（例えば、1つもしくは2つのグリシン、または2つのアラニン）を有する）を使用して生成されたhEPO mRNA転写物のRNase T1テール消化物の結果を示す。図24Aの3'末端集団分布の定量化を示す。20

【図24C】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸（例えば、1つもしくは2つのグリシン、または2つのアラニン）を有する）を使用して生成されたhEPO mRNA転写物のRNase T1テール消化物の結果を示す。非修飾mRNAを使用したIVT反応において生成された均質な3'末端集団のパーセンテージを示す。

【図24D】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸（例えば、1つもしくは2つのグリシン、または2つのアラニン）を有する）を使用して生成されたhEPO mRNA転写物のRNase T1テール消化物の結果を示す。1-メチル-シュードウリジン修飾mRNAを使用したIVT反応において生成された均質な3'末端集団のパーセンテージを示す。30

【図25A】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に置換を有する）を含むIVT反応から生成された非修飾mRNAに対するBJ線維芽細胞のサイトカイン応答を比較するグラフを示す。

【図25B】示されているWT、G47A、またはS43A/G47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に置換を有する）を含むIVT反応から生成された1-メチル-シュードウリジン修飾mRNAに対するBJ線維芽細胞のサイトカイン応答を比較するグラフを示す。

【図26A】示されているWTまたはG47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸を有する）を含むIVT反応から生成された放射標識mRNAを示す。IVT mRNA産物は、ポリアクリルアミド変性ゲル上でサイズ別に分離される。非修飾mRNAまたは1-メチル-シュードウリジン修飾mRNAのいずれかが³²P-CTPで放射標識されている。40

【図26B】示されているWTまたはG47A T7 RNAPバリアント（そのうちのいくつかはC末端に追加のアミノ酸を有する）を含むIVT反応から生成された放射標識mRNAを示す。IVT mRNA産物は、ポリアクリルアミド変性ゲル上でサイズ別に分離される。逆補体mRNAは³²P-CTPで放射標識されている。

【図27A】ホタルルシフェラーゼ(fFLuc)をコードするトリヌクレオチドキャッ

10

20

30

40

50

プされた G 4 7 A * m R N A が、1 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 10 血清サイトカインレベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 27 B】ホタルルシフェラーゼ (f f L u c) をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、2 9 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 10 血清サイトカインレベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 28 A】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、B J 線維芽細胞 (B J F) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 28 B】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、単球由来マクロファージ (M D M) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。 10

【図 29】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週 6 回の投与後に、インビボで高発現を維持することを実証するデータのグラフを示す。

【図 30】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週 6 回の投与後に、低い抗 P E G Ig M レベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 31】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、m R N A 対照と同様の低い B 細胞活性化を示すことを実証するデータのグラフを示す。 20

【図 32 A】ヒトエリスロポエチン (h E P O) をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、1 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 10 血清サイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 32 B】ヒトエリスロポエチン (h E P O) をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、2 2 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 10 血清サイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 33 A】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、B J 線維芽細胞 (B J F) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 33 B】は、h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、単球由来マクロファージ (M D M) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。 30

【図 34】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週に 6 回の投与後に、インビボで高い発現を維持することを実証するデータのグラフを示す。

【図 35】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週 6 回の投与後に、低い抗 P E G Ig M レベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 36】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、m R N A 対照と同様の低い B 細胞活性化を示すことを実証するデータのグラフを示す。 40

【図 37 A】G 4 7 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリアントがインデル頻度に影響しないことを示す。

【図 37 B】G 4 7 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリアントが点変異頻度に影響しないことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0074】

本開示は、例えば、インビトロ転写 (I V T) 反応中に生成されたランオン転写物及び / または二本鎖混入物を減少させながら、転写効率及び 3' 均一性を増加させる、R N A ポリメラーゼ (R N A P) バリアントを提供する。いくつかの実施形態では、単一のアミノ酸置換を含むこれらの R N A P バリアントは、開始複合体から伸長複合体への R N A P

10

20

30

40

50

コンフォメーション転移を促進し、それにより転写開始段階に関連する問題の多くを軽減する。

【 0 0 7 5 】

D N A 依存性 R N A ポリメラーゼ（例えば、T 7 R N A ポリメラーゼ）の N 末端 C へリックス及び／または C リンカー構造（複数可）の修飾（複数可）が、伸長複合体へのポリメラーゼのコンフォメーション平衡を推進し、D N A 鑄型プロモーターの放出及び高度に進行性の伸長段階の開始を促進することを示す予測しなかった実験結果が本明細書で提供される。驚くべきことに、I V T 反応における本明細書で提供されるポリメラーゼバリアントの使用は、生成された転写物間の 3' 不均一性を低減し、二本鎖混入物の生成も低減（または排除）する。さらに、結果は、ポリメラーゼバリアントを使用して生成された転写物の純度及び発現レベルが、野生型ポリメラーゼを使用して生成された転写物のものに匹敵することを示している。

【 0 0 7 6 】

したがって、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントの使用は、I V T 反応生成物に関連する問題の多くを減らす。野生型 T 7 R N A ポリメラーゼ（R N A P）は、産業界及び学界の両方で一般的に使用されており、その活性のうちのいくつかは、得られる R N A 転写物の純度を著しく損なう。特に、この野生型 T 7 R N A P 酵素を使用すると、R N A 転写物の 3' 末端への、ヌクレオチドの鑄型のない（n o n - t e m p l a t e d）付加がもたらされる。例えば、野生型 T 7 R N A P は、核酸塩基の同一性にとってほとんど好ましくないと思われる、少なくとも 1 つ、しばしば 2 つ以上の鑄型なしのヌクレオチドを 3' 末端に挿入する。驚くべきことに、本明細書で提供される T 7 R N A P バリアントは 3' 不均一性の発生を低減させる。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して I V T によって生成された R N A 転写物の 30% 未満が 3' 不均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して I V T によって生成された R N A 転写物の 20% 未満（例えば、15%、10%、または 5% 未満）が 3' 不均一性を示す。いくつかの実施形態では、I V T によって生成された R N A 転写物の 1~20%、1~15%、1~10%、または 1~5% が 3' 不均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して I V T によって生成された R N A 転写物の 1% 未満が 3' 不均一性を示す。

【 0 0 7 7 】

したがって、例えば I V T 反応における、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントの使用は、「より均質な」 R N A 転写物（3' 末端における不均一性が低減し／均一性が増大した R N A 転写物の集団）の生成をもたらす。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物の少なくとも 70% が 3' 均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物の少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、または少なくとも 95% が 3' 均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物の少なくとも 90% が 3' 均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示の R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物の少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% が 3' 均一性を示す。

【 0 0 7 8 】

また、本明細書において、驚くべきことは、アミノ酸置換（例えば、配列番号 1 の S 4 3 A 及び／または G 4 7 A）または C 末端付加（例えば、1 つ以上のアミノ酸が付加された W T、S 4 3 A *、及び／または G 4 7 A *）T 7 R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物は、任意選択により未精製の形態で（例えば、逆相クロマトグラフィーにより精製されずに）細胞に送達されたときに、野生型 R N A ポリメラーゼを使用して生成された R N A に比べて低いサイトカイン応答を刺激する示す結果であつ

10

20

30

40

50

た。いくつかの実施形態では、本開示の T 7 RNA 変異型ポリメラーゼを使用して生成された RNA 転写物を受け取った細胞からの検出可能なサイトカイン応答はない。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアント（例えば、T 7 RNAP S 4 3 A * バリアント及び / または T 7 RNAP G 4 7 A * バリアント）を使用して生成された RNA は、野生型 RNA ポリメラーゼを使用して生成された RNA と比較して、少なくとも 50 %（例えば、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または 100 %）低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアント（例えば、T 7 RNAP S 4 3 A * バリアント及び / または T 7 RNAP G 4 7 A * バリアント）を使用して生成された RNA は、野生型 RNA ポリメラーゼを使用して生成された RNA と比較して、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 100 %、または 90 ~ 100 % 低いサイトカイン応答を刺激する。10
 いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアント（例えば、T 7 RNAP S 4 3 A * バリアント及び / または T 7 RNAP G 4 7 A * バリアント）を使用して生成された RNA は、野生型 RNA ポリメラーゼを使用して生成された RNA と比較して、少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、または 5 倍低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、サイトカイン応答を試験するために使用される細胞は、ヒト線維芽細胞（例えば、BJ（ATCC（登録商標）CRL - 2522（商標））細胞）である。20
 いくつかの実施形態では、サイトカイン応答を試験するために使用される細胞は、単球由来マクロファージ（MDM）である。

【0079】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントを使用して生成された ds RNA 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された ds RNA 転写産物と比較して、少なくとも 50 %（例えば、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または 100 %）低い。いくつかの実施形態では、生成された ds RNA 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された ds RNA 転写物と比較して、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 100 %、または 90 ~ 100 % 低い。30
 いくつかの実施形態では、生成された ds RNA 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された ds RNA 転写物と比較して、少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、または 5 倍低い。

【0080】

本開示の RNA ポリメラーゼバリアントの使用により、二本鎖混入物の生成及びより少ないランオン転写物の生成が予想外にもたらされた。

【0081】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントを使用して例えば I V T によって生成された RNA 転写物の 50 % 未満（例えば、45 % 未満、40 % 未満、35 % 未満、30 % 未満、25 % 未満、20 % 未満、15 % 未満、10 % 未満、5 % 未満、または 1 % 未満）は、二本鎖混入物である。いくつかの実施形態において、生成された RNA 転写産物の 1 ~ 50 %、1 ~ 40 %、1 ~ 30 %、1 ~ 20 %、1 ~ 10 %、1 ~ 5 %、5 ~ 50 %、5 ~ 40 %、5 ~ 30 %、5 ~ 20 %、5 ~ 10 %、10 ~ 50 %、10 ~ 40 %、10 ~ 30 %、または 10 ~ 20 % は、二本鎖混入物である。40

【0082】

いくつかの実施形態において、RNA ポリメラーゼバリアントを使用して生成された RNA 転写産物の 50 % 未満（例えば、45 % 未満、40 % 未満、35 % 未満、30 % 未満、25 % 未満、20 % 未満、15 % 未満、10 % 未満、5 % 未満、または 1 % 未満）は、ランオン RNA 転写産物である。いくつかの実施形態では、生成された RNA 転写物の 1 ~ 50 %、1 ~ 40 %、1 ~ 30 %、1 ~ 20 %、1 ~ 10 %、1 ~ 5 %、5 ~ 50 %、50

5 ~ 40 %、5 ~ 30 %、5 ~ 20 %、5 ~ 10 %、10 ~ 50 %、10 ~ 40 %、10 ~ 30 %、または10 ~ 20 %は、ランオンRNA転写物である。

【0083】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントを使用して生成された全長RNA転写物の量は、DNA鑄型の量よりも少なくとも15倍大きい。例えば、生成された全長RNA転写物の量は、DNA鑄型の量よりも少なくとも20倍、30倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍大きいもので得る。いくつかの実施形態では、生成された全長RNA転写物の量は、DNA鑄型の量よりも15 ~ 100倍、15 ~ 90倍、15 ~ 80倍、15 ~ 70倍、15 ~ 60倍、15 ~ 50倍、15 ~ 40倍、15 ~ 30、15 ~ 20倍、20 ~ 100倍、20 ~ 90倍、20 ~ 80倍、20 ~ 70倍、20 ~ 60倍、20 ~ 50倍、20 ~ 40倍、または20 ~ 30倍大きいもので得る。いくつかの実施形態において、生成された全長RNA転写物の量は、DNA鑄型の量よりも2倍、3倍、4倍、または5倍大きい。

【0084】

いくつかの実施形態では、二本鎖混入物：RNAポリメラーゼバリアントを使用して生成された完全長RNA転写物の比は、1 : 1未満である。たとえば、二本鎖混入物：生成された完全長RNA転写物の比率は、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1 : 1である。

【0085】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントを使用して生成されたRNA転写物は、DNA鑄型と比較して、100ヌクレオチドあたり1未満の変異を有する。例えば、生成されたRNA転写物は、DNA鑄型と比較して、200、300、400、500、600、700、800、900、または1000ヌクレオチドあたり1未満の変異を有し得る。

【0086】

RNAポリメラーゼ

RNAポリメラーゼ(DNA依存性RNAポリメラーゼ)は、成長中のRNA鎖の3'末端へのリボヌクレオチドの連続的な付加を触媒する酵素であり(5' → 3'方向のRNAの転写)、ヌクレオシド三リン酸(NTP)を酵素の基質として作用し、ヌクレオチドの配列はDNA鑄型によって特定される。転写は、塩基の相補的対合に依存する。二重ヘリックスの2本の鎖は局所的に分離し、分離した鎖の1つは鑄型(DNA鑄型)として機能する。次いで、RNAポリメラーゼは、鑄型中の相補的な塩基によって、DNA鑄型上の遊離ヌクレオチドのアライメントを触媒する。したがって、ポリメラーゼが成長中のRNA鎖の3'末端へのリボヌクレオチドの連続的な追加を触媒する場合、RNAポリメラーゼはRNAポリメラーゼ活性を有するとみなす。

【0087】

T7 RNAポリメラーゼ(T7 RNAP)は、バクテリオファージT7のゲノムによりコードされる99kDaのDNA依存性RNAポリメラーゼであり、T7ファージプロモーターに非常に特異的である。T7 RNAPの構造研究により、N末端ドメインのコンフォーメーションが転写の開始段階と伸長段階との間で大きく変化することが示されている。N末端ドメインは、Cヘリックスサブドメイン及びプロモーター結合ドメイン(サブドメインHで分離された2つのセグメントを含む)を含む。プロモーター結合ドメイン及び結合したプロモーターは、8nt RNA転写物の合成の際に約45度回転し、活性部位が拡張して成長中のヘテロ二本鎖を収容しながら、プロモーターの接触の維持が可能となる。Cヘリックスサブドメインは、その伸長コンフォーメーションに向かって緩やかに移動するのに対し、サブドメインHは、伸長段階の位置でなく、開始段階の位置のままであり、70オングストローム超離れる。T7 RNAP開始及び伸長複合体の構造の比較により、N末端267残基(N末端ドメイン)内の大きなコンフォーメーション変化及びRNAPの残部のわずかな変化が明らかになった。プロモーター結合ドメインの剛体回転ならびに末端Cヘリックス(残基28 ~ 71)及びH(残基151 ~ 190)サブドメインのリ

10

20

30

40

50

フォールディングは、プロモーター結合部位の廃棄、活性部位の拡張、及びRNA転写物の出口トンネルの作出に関与している。N末端ドメイン内の構造変化は、伸長複合体の安定性の増加及び加工性の主な要因である（例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Durniak, K. J. et al., Science 322 (5901) : 553 - 557, 2008, を参照のこと）。

【0088】

いくつかの態様では、RNAP開始複合体からRNAP伸長複合体へのコンフォメーション変化を促進するRNAポリメラーゼバリアント（例えば、T7 RNAPバリアント）が本明細書で提供される。RNAポリメラーゼバリアントは、RNAポリメラーゼ活性及び対応する野生型RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つの置換を有する酵素である。上に示したように、RNAポリメラーゼは、該ポリメラーゼが成長中のRNA鎖の3'末端へのリボヌクレオチドの連続的な付加を触媒する場合、RNAポリメラーゼ活性を有しているとみなされる。例えば、位置S43（例えば、S43A）またはG47（例えば、G47A）にアミノ酸置換を有する配列番号1のアミノ酸配列を含み、RNAポリメラーゼ活性を維持する酵素は、野生型T7 RNAP（配列番号1）のT7 RNAPバリアントとみなされる。

10

【0089】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、野生型RNAポリメラーゼと比較して、RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて、RNAポリメラーゼバリアントの少なくとも1つの三次元ループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。したがって、いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸修飾は、野生型アミノ酸と比較して高ヘリックス性向を有する。

20

【0090】

ループ構造の例には、T7 RNAポリメラーゼ開始複合体（IC）コンフォメーションのCヘリックス構造中のアミノ酸（aa）42～47（例えば、配列番号1のaa28～71）及びCリンカー構造中のアミノ酸257～262（例えば、配列番号1のアミノ酸258～266）が含まれるが、これらに限定されない。

【0091】

C末端に少なくとも1つの追加のアミノ酸を含むRNAポリメラーゼバリアント（例えば、T7 RNAPバリアント）も本明細書で提供される。少なくとも1つの追加のアミノ酸は、いくつかの実施形態では、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、及びバリンから選択される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、極性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、非極性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、グリシンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、アラニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、セリンである。

30

【0092】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A X_n（配列番号1_7_1）を含み、Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5（例えば、1、2、3、4、または5）である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A G_n（配列番号3_3_0）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A A_n（配列番号3_3_1）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A R_n（配列番号3_3_2）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末

40

50

端は、以下のコンセンサス配列：F A F A N_n（配列番号3_3_3）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A D_n（配列番号3_3_4）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A C_n（配列番号3_3_5）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A E_n（配列番号3_3_6）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A Q_n（配列番号3_0_2）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A H_n（配列番号3_0_3）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A I_n（配列番号3_0_4）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A L_n（配列番号3_0_5）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A K_n（配列番号3_0_6）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A M_n（配列番号3_0_7）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A F_n（配列番号3_0_8）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A P_n（配列番号3_0_9）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A S_n（配列番号3_1_0）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A T_n（配列番号3_1_1）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A W_n（配列番号3_1_2）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A Y_n（配列番号3_1_3）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A V_n（配列番号3_1_4）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。

【0093】

いくつかの実施形態では、C末端モチーフ（F A F A（配列番号1_7_2）またはF A F A X_n（配列番号1_7_1））は、野生型T7 RNA P（例えば、配列番号1）と比較して、880位、881位、882位、または883位のうちの1つ以上にアミノ酸置換を含む。したがって、本開示は、様々なC末端F₈₈₀A₈₈₁F₈₈₂A₈₈₃（配列番号1_7_2）モチーフを含み、880位、881位、882位、または883位のうちの1つ以上のアミノ酸が、野生型T7 RNA P（例えば、配列番号1）と比較して、追加のC末端アミノ酸（X_n）の有無にかかわらず、少なくとも1つのアミノ酸置換が含まれるように修飾されている。

【0094】

アミノ酸置換

本開示のRNAポリメラーゼバリアントは、WT RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。例えば、配列番号1のアミノ酸配列を有するWT T7 RNAポリメラーゼに関して、43位のセリンは「野生型アミノ酸」とみなされ、43位のセリンのアラニンへの置換は高いヘリックス性向を有する「アミノ酸置換」とみなされる。

【0095】

平均的な球状タンパク質は、30%の、最も一般的な種類の二次構造であるヘリック

10

20

30

40

50

スを含む。いくつかのアミノ酸は、他のアミノ酸よりもヘリックスにおいてより頻繁に存在し、この傾向はヘリックス性向として知られている。例えば、Pace, N. C. and Scholtz, J. M. Biophysical Journal, 75: 422-427 (1998) を参照のこと。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、野生型アミノ酸と比較して高いヘリックス性向を有する。一般に、高ヘリックス性向のアミノ酸置換は、ポリメラーゼ配座異性体の集団を伸長複合体へと熱力学的に偏らせるように選択される。相対 G_s (自由エネルギー) は、公に利用可能なソフトウェア (例えば、ワシントン大学の Rosetta とシュレディンガーの Maestro) を使用して、IC 及び伸長複合体 (EC) 構造の置換について計算される。次いで、置換は、計算ならびに例えばアミノ酸ヘリックス性向及び / またはポリペプチド骨格 pH i - psi 適合性を含む追加の知識に基づいて選択される。

【0096】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントは、WT T7 RNA ポリメラーゼ (例えば、配列番号 1 のアミノ酸配列を有する WT T7 RNA ポリメラーゼ) と比較して少なくとも 1 つ (1 つ以上) のアミノ酸置換を含む T7 RNA ポリメラーゼバリアントである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、高ヘリックス性向アミノ酸置換である。高ヘリックス性向アミノ酸の例には、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸が含まれる。

【0097】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントは、C 末端に少なくとも 1 つの追加のアミノ酸を含む T7 RNA ポリメラーゼバリアント (例えば、配列番号 99、配列番号 100、配列番号 294、配列番号 295、もしくは配列番号 296、または配列番号 99、配列番号 100、配列番号 294、配列番号 295、もしくは配列番号 296 と 90% ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列) である。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントは、WT T7 RNA ポリメラーゼと比較して、C 末端に少なくとも 1 つの追加のアミノ酸及びアミノ酸置換を含む T7 RNA ポリメラーゼバリアントである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0098】

本明細書では、コンフォーメーション平衡を熱力学的に EC へと偏らせる / 支持する高いまたはより高いヘリックス性向のアミノ酸置換を特定するために使用し得る 2 つのアプローチが提供される。どちらのアプローチでも、(構造のレビュー、文献検索に基づいて) プロモーターの結合または触媒に直接関与する任意の位置へのアミノ酸置換を避けるように注意が払われる。方法 A では、専用のソフトウェアを使用して、EC 及び IC の変異 (G_{mut}) によるタンパク質折りたたみの自由エネルギーの変化を算定する。望ましい配列位置でのすべての可能なアミノ酸置換は、この方法によって評価される。望ましいアミノ酸置換 (すなわち、IC よりも EC を好む置換) は、G_{mut} の差

【数 1】

$$(\Delta\Delta G_{mut}^{EC} - \Delta\Delta G_{mut}^{IC})$$

が負であるアミノ酸置換である。方法 B では、IC 及び EC 二次構造アノテーション (例えば、DSSP ソフトウェアを使用した IC 及び EC 三次構造の 3D モデルから決定される (Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. Kabsch W, Sander C, Biopolymers. 1983; 22: 2577-2637)) は、IC 中にループを有し、かつ EC 中にヘリックスを有する領域を同定するために検査される。次い

10

20

30

40

50

で、低ヘリックス性向を有する残基（例えばG 1 y）を有する配列位置を高ヘリックス性向のアミノ酸（例えばA 1 a）で置換する。T 7 RNA Pの場合、例えば、方法A及びBの変異（例えば、置換）オーバーラップ及び方法Bのトップ（top）バリエントを同定した。

【0099】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位（E 42、S 43、Y 44、E 45、M 46、及び／またはG 47）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸）置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位（E 42、S 43、Y 44、E 45、M 46、及び／またはG 47）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸）置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸43位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸44位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸45位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸46位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸47位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0100】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸42～47位（E 42、S 43、Y 44、E 45、M 46、及び／またはG 47）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸）置換である。アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位（E 42、S 43、Y 44、E 45、M 46、及び／またはG 47）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸）置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸42位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸43位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸44位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸45位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸46位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸47位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0101】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少

10

20

30

40

50

なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 42 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 43 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 44 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 45 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 46 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 47 位におけるアラニンである。

【0102】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 44 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 45 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 46 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるアラニンである。

【0103】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 42 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 43 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 44 位のイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 45 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 46 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 47 位におけるイソロイシンである。

【0104】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるイソロイシンである。

10

20

30

40

50

294、295、または296の44位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の45位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の46位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の47位におけるイソロイシンである。

【0105】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の42位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の43位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の44位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の45位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の46位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の47位におけるロイシンである。

【0106】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の42位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の43位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の44位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の45位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の46位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の47位におけるロイシンである。

【0107】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の42位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の43位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の44位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の45位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の46位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の47位におけるアルギニンである。

【0108】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42～47 位のいずれか 1 つにおけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90～99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42～47 位のいずれか 1 つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 44 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 45 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 46 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるアルギニンである。

【 0 1 0 9 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の42位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の43位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の44位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の45位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の46位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の47位におけるメチオニンである。

【 0 1 1 0 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位のいずれか 1 つにおけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位のいずれか 1 つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 2 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 3 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 4 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 5 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 6 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 7 位におけるメチオニンである。

[0 1 1 1]

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少

なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42～47 位のいずれか 1 つにおけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 42 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 43 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 44 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 45 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 46 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 47 位におけるリジンである。

【 0 1 1 2 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位のいずれか 1 つにおけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位のいずれか 1 つにおけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 2 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 3 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 4 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 5 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 6 位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 7 位におけるリジンである。

【 0 1 1 3 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるグルタミンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の42位におけるグルタミンであるいくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の43位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の44位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の45位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の46位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の47位におけるグルタミンである。

〔 0 1 1 4 〕

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位のいずれか 1 つにおけるグルタミンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 2 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 3 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 4 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 4 5 位

におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の46位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の47位におけるグルタミン酸である。

【0115】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 42 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 43 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 44 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 45 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 46 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 47 位におけるグルタミン酸である。

【0116】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の 42 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の 43 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の 44 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の 45 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の 46 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または296の 47 位におけるグルタミン酸である。

【0117】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 ~ 262 位 (R 257、A 258、G 259、A 260、L 261、及び / または A 262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位 (R 257、A 258、G 259、A 260、L 261、及び / または A 262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 258 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 259 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 260 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 261 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 262 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

10

20

30

40

50

ミノ酸 260 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 261 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 262 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0118】

アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257～262 位 (R257、A258、G259、A260、L261、及び / または A262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / または グルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位 (R257、A258、G259、A260、L261、及び / または A262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / または グルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 258 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 259 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 260 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 261 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 262 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0119】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 257 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 258 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 259 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 260 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 261 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 262 位におけるアラニンである。

【0120】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 257 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ

10

20

30

40

50

酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 258 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 259 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 260 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 261 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 262 位におけるアラニンである。

【0121】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 257 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 258 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 259 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 260 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 261 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 262 位におけるイソロイシンである。

10

20

【0122】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 257 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 258 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 259 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 260 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 261 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 262 位におけるイソロイシンである。

30

【0123】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるロイシンであるアミノ酸置換は、配列番号 1 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 257 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 258 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 259 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 260 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 261 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 262 位におけるロイシンである。

40

50

る。

【0124】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の257位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の258位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の259位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の260位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の261位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の262位におけるロイシンである。

10

【0125】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸257～262位のいずれか1つのアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の262位におけるアルギニンである。

20

【0126】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸257～262位のいずれか1つのアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の257位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の258位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の259位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の260位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の261位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の262位におけるアルギニンである。

30

【0127】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸257～262位の

40

50

いずれか1つにおけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の262位におけるメチオニンである。

10

【0128】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸257～262位のいずれか1つのメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の257位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の258位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の259位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の260位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の261位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の262位におけるメチオニンである。

20

【0129】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸257～262位のいずれか1つのリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の262位におけるリジンである。

30

【0130】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸257～262位のいずれか1つのリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の257位におけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ

40

50

酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 8 位におけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 9 位におけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 0 位におけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 1 位におけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 2 位におけるリジンである。

【 0 1 3 1 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるグルタミンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の262位におけるグルタミンである。

【 0 1 3 2 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90～99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257～262 位のいずれか 1 つにおけるグルタミンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 257 位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 258 位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 259 位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 260 位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 261 位におけるグルタミンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 262 位におけるグルタミンである。

【 0 1 3 3 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、ア

ミノ酸置換は、配列番号 1 の 2 6 2 位におけるグルタミン酸である。

【 0 1 3 4 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位のいずれか 1 つのグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 7 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 8 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 9 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 0 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 1 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 2 位におけるグルタミン酸である。

【 0 1 3 5 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び / または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び / または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【 0 1 3 6 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び / または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び / または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【 0 1 3 7 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む。

【 0 1 3 8 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 0 7 または 1 0 8 のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 0 9 または 1 1 0 のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 1 1 または 1 1 2 のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、T 7 RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 1 3 または 1 1 4 のアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0139】

少なくとも 2 つ（2 つ以上）の置換を有する RNA ポリメラーゼバリアントも本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位（E 42、S 43、Y 44、E 45、M 46、及び / または G 47）及び / またはアミノ酸 257 ~ 262 位（R 257、A 258、G 259、A 260、L 261、及び / または A 262）のいずれか 1 つにおける少なくとも 2 つの高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸）置換を含む。

10

【0140】

例えば、RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 または配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列の E 42 及び S 43、E 42 及び Y 44、E 42 及び E 45、E 42 及び M 46、E 42 及び G 47、S 43 及び Y 44、S 43 及び E 45、S 43 及び M 46、S 43 及び G 47、Y 44 及び E 45、Y 44 及び M 46、Y 44 及び G 47、E 45 及び M 46、E 45 及び G 47、または M 46 及び G 47 におけるアミノ酸置換（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸）を含み得る。

20

【0141】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 または配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列の R 257 及び A 258、R 257 及び G 259、R 257 及び A 260、R 257 及び L 261、R 257 及び A 262、A 258 及び G 259、A 258 及び A 260、A 258 及び L 261、A 258 及び A 262、G 259 及び A 260、G 259 及び L 261、G 259 及び A 262、A 260 及び L 261、A 260 及び A 262、または L 261 及び A 262 におけるアミノ酸置換（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸）を含み得る。

30

【0142】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリアントは、配列番号 1 または配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列の E 42 及び R 257、E 42 及び A 258、E 42 及び G 259、E 42 及び A 260、E 42 及び L 261、E 42 及び A 262、S 43 及び R 257、S 43 及び A 258、S 43 及び G 259、S 43 及び A 260、S 43 及び L 261、S 43 及び A 262、Y 44 及び R 257、Y 44 及び A 258、Y 44 及び G 259、Y 44 及び A 260、Y 44 及び L 261、Y 44 及び A 262、E 45 及び R 257、E 45 及び A 258、E 45 及び G 259、E 45 及び A 260、E 45 及び L 261、E 45 及び A 262、M 46 及び R 257、M 46 及び A 258、M 46 及び G 259、M 46 及び A 260、M 46 及び L 261、M 46 及び A 262、G 47 及び R 257、G 47 及び A 258、G 47 及び G 259、G 47 及び A 260、G 47 及び L 261、または G 47 及び A 262 におけるアミノ酸置換（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸）を含み得る。

40

【0143】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列の

50

S 4 3 A 及び G 4 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のS 4 3 A 及び R 2 5 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のS 4 3 A 及び G 2 5 9 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のG 4 7 A 及び R 2 5 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のG 4 7 A 及び R 2 5 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のR 2 5 7 A 及び G 2 5 9 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のG 4 7 A 及び G 2 5 9 A におけるアミノ酸置換を含む。

【0144】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位(E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/またはG 4 7)及び/またはアミノ酸257～262位(R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び/またはA 2 6 2)のいずれか1つにおける少なくとも3つ(もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)の高ヘリックス性向アミノ酸(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)置換を含む。

【0145】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、E 4 2 R、S 4 3 A、S 4 3 E、S 4 3 L、S 4 3 R、E 4 5 R、E 4 5 L、M 4 6 A、G 4 7 A、G 4 7 E、G 4 7 L、G 4 7 R、N 1 6 5 W、E 1 6 7 M、E 1 6 7 N、E 1 6 8 I、E 1 6 8 T、E 1 6 8 V、A 1 8 1 F、A 1 8 1 W、G 1 8 4 M、E 1 8 7 F、A 2 5 5 Q、A 2 5 5 K、A 2 5 5 I、A 2 5 5 Y、R 2 5 7 A、R 2 5 7 E、R 2 5 7 L、R 2 5 7 W、G 2 5 9 A、G 2 5 9 E、G 2 5 9 L、G 2 5 9 R、A 2 6 0 W、及びA 2 6 0 Rから選択される、配列番号1または配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列における少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含む。

【0146】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号99、100、294、295、または296または配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列の

10

20

30

40

50

アミノ酸42～47位(E42、S43、Y44、E45、M46、及び/またはG47)及び/またはアミノ酸257～262位(R257、A258、G259、A260、L261、及び/またはA262)のいずれか1つにおける少なくとも2つの高ヘリック性向アミノ酸(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)置換を含む。

【0147】

例えば、RNAポリメラーゼバリアントは、配列番号99、100、294、295、または296または配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸位置E42及びS43、E42及びY44、E42及びE45、E42及びM46、E42及びG47、S43及びY44、S43及びE45、S43及びM46、S43及びG47、Y44及びE45、Y44及びM46、Y44及びG47、E45及びM46、E45及びG47、またはM46及びG47におけるアミノ酸置換(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)を含み得る。

10

【0148】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、配列番号99、100、294、295、または296または配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸位置R257及びA258、R257及びG259、R257及びA260、R257及びL261、R257及びA262、A258及びG259、A258及びA260、A258及びL261、A258及びA262、G259及びA260、G259及びL261、G259及びA262、A260及びL261、A260及びA262、またはL261及びA262におけるアミノ酸置換(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)を含む。

20

【0149】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、配列番号99、100、294、295、または296または配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸位置E42及びR257、E42及びA258、E42及びG259、E42及びA260、E42及びL261、E42及びA262、S43及びR257、S43及びA258、S43及びG259、S43及びA260、S43及びL261、S43及びA262、Y44及びR257、Y44及びA258、Y44及びG259、Y44及びA260、Y44及びL261、Y44及びA262、E45及びR257、E45及びA258、E45及びG259、E45及びA260、E45及びL261、E45及びA262、M46及びR257、M46及びA258、M46及びG259、M46及びA260、M46及びL261、M46及びA262、G47及びR257、G47及びA258、G47及びG259、G47及びA260、G47及びL261、またはG47及びA262におけるアミノ酸置換(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)を含む。

30

【0150】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号99、100、294、295、または296または配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列の

40

50

アミノ酸置換 S 4 3 A 及び G 4 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 S 4 3 A 及び R 2 5 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 S 4 3 A 及び G 2 5 9 A を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 G 4 7 A 及び R 2 5 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 G 4 7 A 及び R 2 5 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 G 4 7 A 及び G 2 5 9 A を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 G 4 7 A 及び G 2 5 9 A を含む。

【0151】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位 (E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び / または G 4 7) 及び / またはアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位 (R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び / または A 2 6 2) のいずれか 1 つにおける少なくとも 3 つ (もしくは少なくとも 4 つ、または少なくとも 5 つ) の高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸) 置換を含む。

【0152】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、E 4 2 R、S 4 3 A、S 4 3 E、S 4 3 L、S 4 3 R、E 4 5 R、E 4 5 L、M 4 6 A、G 4 7 A、G 4 7 E、G 4 7 L、G 4 7 R、N 1 6 5 W、E 1 6 7 M、E 1 6 7 N、E 1 6 8 I、E 1 6 8 T、E 1 6 8 V、A 1 8 1 F、A 1 8 1 W、G 1 8 4 M、E 1 8 7 F、R 2 5 7 A、R 2 5 7 E、R 2 5 7 L、R 2 5 7 W、G 2 5 9 A、G 2 5 9 E、G 2 5 9 L、G 2 5 9 R、A 2 6 0 W、及び A 2 6 0 R から選択される、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、もしくは 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、もしくは 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列における少なくとも 1 つ (もしくは少なくとも 2 つ、もしくは少なくとも 3 つ、もしくは少なくと

10

20

30

40

50

も4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含む。

【0153】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリアントは、E 42R、S 43A、S 43E、S 43L、S 43R、E 45R、E 45L、M 46A、G 47A、G 47E、G 47L、G 47R、N 165W、E 167M、E 167N、E 168I、E 168T、E 168V、A 181F、A 181W、G 184M、E 187F、R 257A、R 257E、R 257L、R 257W、G 259A、G 259E、G 259L、G 259R、A 260W、及びA 260Rから選択される、少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含み、少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)の他のアミノ酸置換(例えば、本明細書に提供されていないアミノ酸置換)をさらに含む。10

【0154】

したがって、本開示は、E 42R、S 43A、S 43E、S 43L、S 43R、E 45R、E 45L、M 46A、G 47A、G 47E、G 47L、G 47R、N 165W、E 167M、E 167N、E 168I、E 168T、E 168V、A 181F、A 181W、G 184M、E 187F、A 255K、A 255Q、A 255Y、A 255I、R 257A、R 257E、R 257L、R 257W、G 259A、G 259E、G 259L、G 259R、A 260W、及びA 260Rから選択される少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含み、配列番号1と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有する、RNAポリメラーゼバリアントを包含する。20

【0155】

「同一性」という用語は、配列を比較することにより決定される2つ以上のポリペプチド(例えば酵素)またはポリヌクレオチド(核酸)の配列間の関係を指す。同一性はまた、2つ以上のアミノ酸残基または核酸残基のストリング間の一一致数によって決定される配列間または配列の間での配列関連性の程度も指す。同一性は、特定の数学的モデルまたはコンピュータープログラム(例えば、「アルゴリズム」)によって指定されたギャップアライメント(存在する場合)を有する2つ以上の配列間の同一性一致のパーセントを測定する。関連するタンパク質または核酸の同一性は、既知の方法で容易に計算することができる。ポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列に適用される「同一性パーセント(%)」(percent(%) identity)」は、配列をアラインさせ、必要に応じてギャップを導入して、最大パーセントの同一性を達成した後の第2の配列のアミノ酸配列または核酸配列中の残基と同一である候補アミノ酸または核酸配列中の残基(アミノ酸残基または核酸残基)のパーセントとして定義される。アライメントのための方法及びコンピュータープログラムは、当該分野で周知である。同一性は、同一性パーセントの計算に依るが、計算に導入されるギャップ及びペナルティにより値が異なる場合があることが理解される。一般的に、特定のポリヌクレオチドまたはポリペプチド(例えば、抗原)のバリアントは、本明細書に記載され、当業者に既知である配列アライメントプログラム及びパラメーターによって決定される特定の参照ポリヌクレオチドまたはポリペプチドのものに対して、少なくとも40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%であるが、100%未満の配列同一性を有する。そのようなアライメント用ツールには、BLASTスイートのツールが含まれる(Stephen F. Altschul, et al (1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25: 3389 - 3402)。別の一般的なローカルアライメント手法は、Smith-Waterman304050

anアルゴリズムに基づく(Smith, T. F. & Waterman, M. S. (1981)「Identification of common molecular subsequences.」J. Mol. Biol. 147: 195-197)。ダイナミック(dynamic)プログラミングに基づく一般的なグローバルアライメント手法は、Needleman-Wunschアルゴリズムである(Needleman, S. B. & Wunsch, C. D. (1970)「A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequences of two proteins.」J. Mol. Biol. 48: 443-453)。最近では、Needleman-Wunschアルゴリズムを含む他の最適なグローバルアライメント手法よりも高速にヌクレオチド及びタンパク質配列のグローバルアライメントを生成するといわれる、Fast Optimal Global Sequence Alignment Algorithm (FOGSAA) が開発された。10

【0156】

トリヌクレオチドキャップ

リボ核酸(RNA)合成のための共転写キャッピング方法も本明細書で提供される。すなわち、RNAは「ワンポット(one-pot)」反応で生成され、別々のキャッピング反応を必要としない。したがって、本方法は、いくつかの実施形態では、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鉄型をT7 RNAポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む。20

【0157】

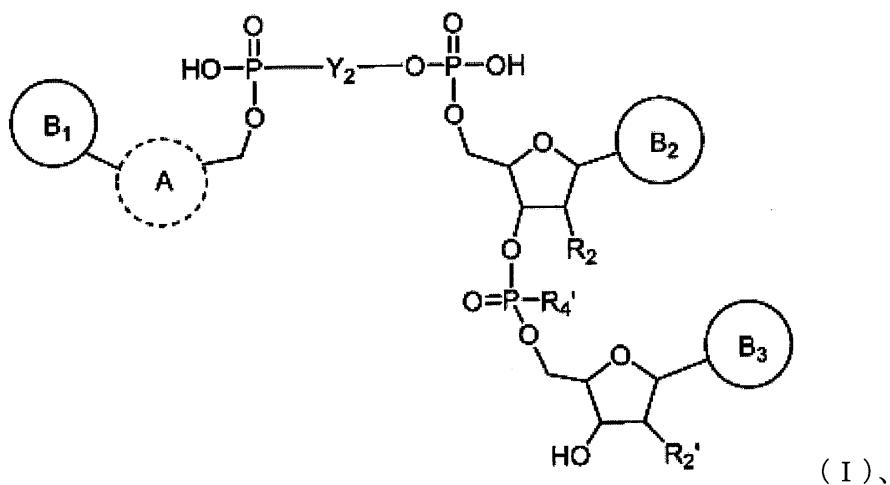
キャップ類似体は、例えば、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップであり得る。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、ジヌクレオチドキャップである。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、トリヌクレオチドキャップである。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、テトラヌクレオチドキャップである。

【0158】

トリヌクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、式(I)の化合物

【化1】

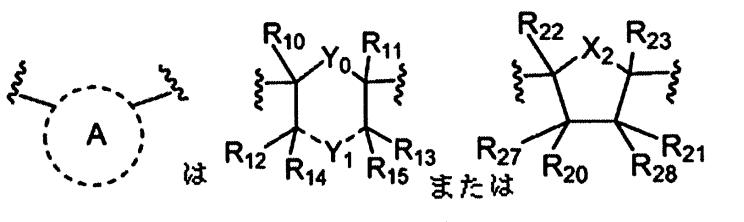
30



またはその立体異性体、互変異性体、もしくは塩を含み、式中、

50

【化 2】



環 B_1 は、修飾または未修飾グアニンであり、

10

環 B_2 及び環 B_3 はそれぞれ独立して、核酸塩基または修飾核酸塩基であり、

X_2 は O 、 $S(O)_p$ 、 NR_{24} 、または $CR_{25}R_{26}$ であり、 p は 0 、 1 、または 2 であり、

Y_0 は、 O または CR_6R_7 であり、

Y_1 は、 O 、 $S(O)_n$ 、 CR_6R_7 、または NR_8 であり、 n は 0 、 1 、または 2 であり、

各 - - - は、単結合または不存在であり、各 - - - が単結合の場合、 Y_i は O 、 $S(O)_n$ 、 CR_6R_7 、または NR_8 であり、各 - - - が不存在である場合、 Y_1 は空 (void) であり、

Y_2 は、 $(OP(O)R_4)_m$ (m は 0 、 1 、または 2 である) または $-O-(CR_{40}R_{41})_u-Q_0-(CR_{42}R_{43})_v-$ であり、ここで、 Q_0 は結合、 O 、 $S(O)_r$ 、 NR_{44} 、または $CR_{45}R_{46}$ であり、 r は 0 、 1 、または 2 であり、 u 及び v の各々は、独立して、 1 、 2 、 3 または 4 であり、

20

各 R_2 及び R_2' は、独立して、ハロ、LNA、または OR_3 であり、

各 R_3 は、独立して、 H 、 C_1-C_6 アルキル、 C_2-C_6 アルケニル、または C_2-C_6 アルキニルであり、 R_3 は、 C_1-C_6 アルキル、 C_2-C_6 アルケニル、または C_2-C_6 アルキニルである場合、ハロ、 OH 、または 1 つ以上の OH もしくは $OC(O)-C_1-C_6$ アルキルで任意選択により置換された C_1-C_6 アルコキシルのうちの 1 つ以上で任意選択により置換され、

各 R_4 及び R_4' は、独立して、 H 、ハロ、 C_1-C_6 アルキル、 OH 、 SH 、 SeH 、または BH_3^- であり、

30

R_6 、 R_7 、及び R_8 の各々は、独立して、 $-Q_1-T_1$ であり、ここで、 Q_1 は、結合、またはハロ、シアノ、 OH 、及び C_1-C_6 アルコキシのうちの 1 つ以上で任意選択により置換された C_1-C_3 アルキルリンカーであり、 T_1 は、 H 、ハロ、 OH 、 $COOH$ 、シアノ、または R_{s1} であり、ここで、 R_{s1} は、 C_1-C_3 アルキル、 C_2-C_6 アルケニル、 C_2-C_6 アルキニル、 C_1-C_6 アルコキシル、 $C(O)O-C_1-C_6$ アルキル、 C_3-C_8 シクロアルキル、 C_6-C_{10} アリール、 $NR_{31}R_{32}$ 、 $(NR_{31}R_{32})^+$ 、4~12 員のヘテロシクロアルキル、または 5 もしくは 6 員のヘテロアリールであり、 R_{s1} は、ハロ、 OH 、オキソ、 C_1-C_6 アルキル、 $COOH$ 、 $C(O)O-C_1-C_6$ アルキル、シアノ、 C_1-C_6 アルコキシル、 $NR_{31}R_{32}$ 、 $(NR_{31}R_{32})^+$ 、 C_3-C_8 シクロアルキル、 C_6-C_{10} アリール、4~12 員のヘテロシクロアルキル、及び 5 または 6 員のヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基で任意選択により置換され、

40

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 $R_{13}R_{14}$ 、及び R_{15} の各々は、独立して、 $-Q_2-T_2$ であり、ここで、 Q_2 は、結合、またはハロ、シアノ、 OH 、及び C_1-C_6 アルコキシのうちの 1 つ以上で任意選択により置換された C_1-C_3 アルキルリンカーであり、 T_2 は、 H 、ハロ、 OH 、 NH_2 、シアノ、 NO_2 、 N_3 、 R_{s2} 、または OR_{s2} であり、ここで、 R_{s2} は、 C_1-C_6 アルキル、 C_2-C_6 アルケニル、 C_2-C_6 アルキニル、 C_3-C_8 シクロアルキル、 C_6-C_{10} アリール、 $NHC(O)-C_1-C_6$ アルキル、 $NR_{31}R_{32}$ 、 $(NR_{31}R_{32})^+$ 、4~12 員のヘテロシクロアルキル、または 5 もしく

50

は6員のヘテロアリールあり、R_{s2}は、ハロ、OH、オキソ、C₁-C₆アルキル、CO
OH、C(O)O-C₁-C₆アルキル、シアノ、C₁-C₆アルコキシル、NR₃₁R₃₂
2、(NR₃₁R₃₂R₃₃)⁺、C₃-C₈シクロアルキル、C₆-C₁₀アリール、4~
12員のヘテロシクロアルキル、及び5または6員のヘテロアリールからなる群から選択
される1つ以上の置換基で任意選択により置換され、あるいはR₁₂はR₁₄と一緒にオキ
ソであり、またはR₁₃はR₁₅と一緒にオキソであり、

R₂₀、R₂₁、R₂₂、及びR₂₃の各々は、独立して、-Q₃-T₃であり、ここで
、Q₃は、結合、またはハロ、シアノ、OH、及びC₁-C₆アルコキシのうちの1つ以上
で任意選択により置換されたC₁-C₃アルキルリンカーであり、T₃は、H、ハロ、OH
、NH₂、シアノ、NO₂、N₃、RS₃、またはOR_{S3}であり、ここで、RS₃は、C₁
-C₆アルキル、C₂-C₆アルケニル、C₂-C₆アルキニル、C₃-C₈シクロアルキ
ル、C₆-C₁₀アリール、NHC(O)-C₁-C₆アルキル、モノ-C₁-C₆アルキ
ルアミノ、ジ-C₁-C₆アルキルアミノ、4~12員のヘテロシクロアルキル、または
5もしくは6員のヘテロアリールあり、RS₃は、ハロ、OH、オキソ、C₁-C₆アルキ
ル、COOH、C(O)O-C₁-C₆アルキル、シアノ、C₁-C₆アルコキシル、アミ
ノ、モノ-C₁-C₆アルキルアミノ、ジ-C₁-C₆アルキルアミノ、C₃-C₈シクロ
アルキル、C₆-C₁₀アリール、4~12員のヘテロシクロアルキル、及び5または6員
のヘテロアリールからなる群から選択される1つ以上の置換基で任意選択により置換され、
R₂₄、R₂₅、及びR₂₆の各々は、独立して、HまたはC₁-C₆アルキルであり、

R₂₇及びR₂₈の各々は、独立して、HまたはOR₂₉であり、あるいはR₂₇及びR
28は一緒になって、O-R₃₀-Oを形成し、各R₂₉は、独立して、H、C₁-C₆アル
キル、C₂-C₆アルケニル、またはC₂-C₆アルキニルであり、R₂₉は、C₁-
C₆アルキル、C₂-C₆アルケニル、またはC₂-C₆アルキニルである場合、ハロ、OH
、または1つ以上のOHもしくはOC(O)-C₁-C₆アルキルで任意選択により置
換されたC₁-C₆アルコキシルのうちの1つ以上で任意選択により置換され、

R₃₀は、ハロ、OH、及びC₁-C₆アルコキシルのうちの1つ以上で任意選択により
置換されたC₁-C₆アルキレンであり、

R₃₁、R₃₂、及びR₃₃の各々は、独立して、H、C₁-C₆アルキル、C₃-C₈
シクロアルキル、C₆-C₁₀アリール、4~12員のヘテロシクロアルキル、または5ま
たは6員のヘテロアリールであり、

R₄₀、R₄₁、R₄₂、及びR₄₃の各々は、独立して、H、ハロ、OH、シアノ、N₃
、OP(O)R₄₇R₄₈、または1つ以上のOP(O)R₄₇R₄₈で任意選択により置
換されたC₁-C₆アルキルであり、あるいは1つのR₄₁及び1つのR₄₃は、それらが
結合している炭素原子及びQ₀と一緒にになって、C₄-C₁₀シクロアルキル、4~14員
のヘテロシクロアルキル、C₆-C₁₀アリール、または5~14員のヘテロアリールを形
成し、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、フェニル、または5~6員のヘテロアリ
ールの各々は、OH、ハロ、シアノ、N₃、オキソ、OP(O)R₄₇R₄₈、C₁-C₆
アルキル、C₁-C₆ハロアルキル、COOH、C(O)O-C₁-C₆アルキル、C₁-
C₆アルコキシル、C₁-C₆ハロアルコキシル、アミノ、モノ-C₁-C₆アルキルアミ
ノ、及びジ-C₁-C₆アルキルアミノのうちの1つ以上で任意選択により置換され、

R₄₄は、H、C₁-C₆アルキル、またはアミン保護基であり、

R₄₅及びR₄₆の各々は、独立して、H、OP(O)R₄₇R₄₈、または1つ以上の
OP(O)R₄₇R₄₈で任意選択により置換されたC₁-C₆アルキルであり、

R₄₇及びR₄₈の各々は、独立して、H、ハロ、C₁-C₆アルキル、OH、SH、SeH
、またはBH₃⁻である。

【0159】

本明細書で提供されるキャップ類似体は、その全体が参照により本明細書に組み込まれ
る、2017年4月20日に公開された国際公開WO2017/066797に記載のキャップ類似体のいずれかを含み得ることを理解されたい。

【0160】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、B₂ 中間位置は、アラビノースなどの非リボース分子であります。

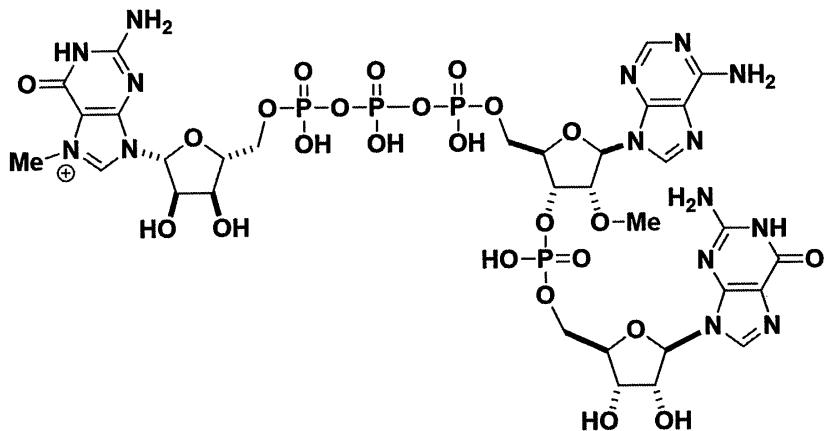
【0161】

いくつかの実施形態では、R₂ はエチル系である。

【0162】

したがって、いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

【化3】



10

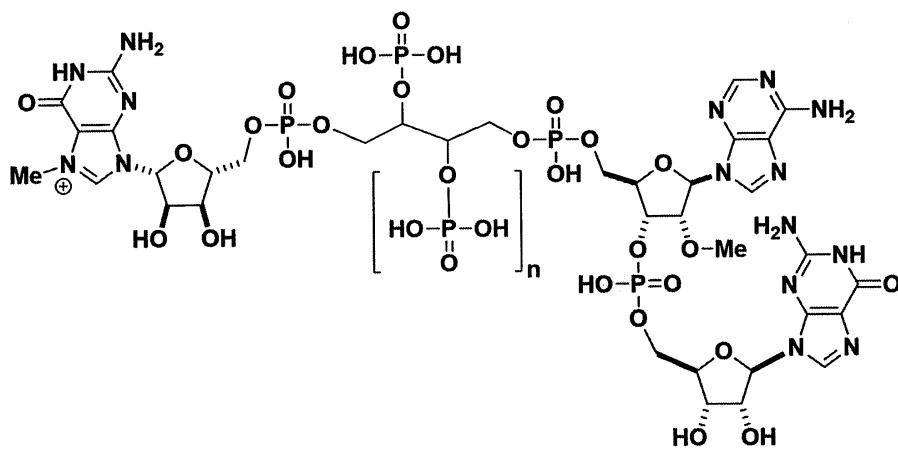
(I I)

20

【0163】

他の実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

【化4】



30

(I I I)

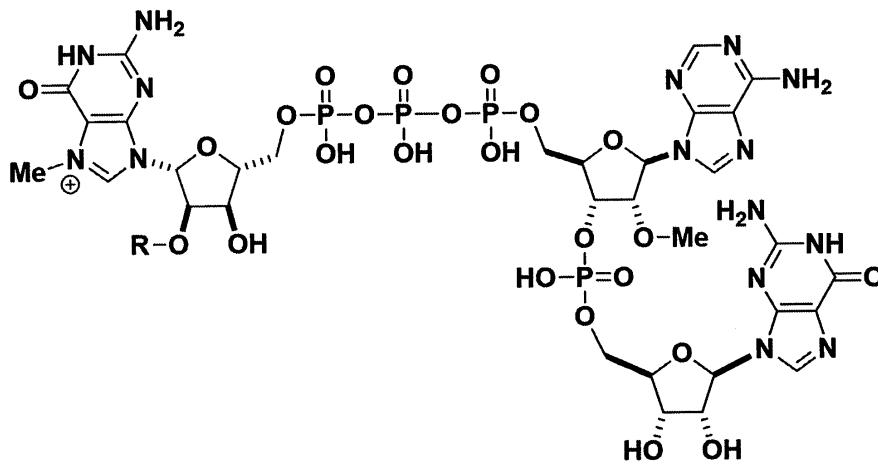
40

【0164】

さらに他の実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

50

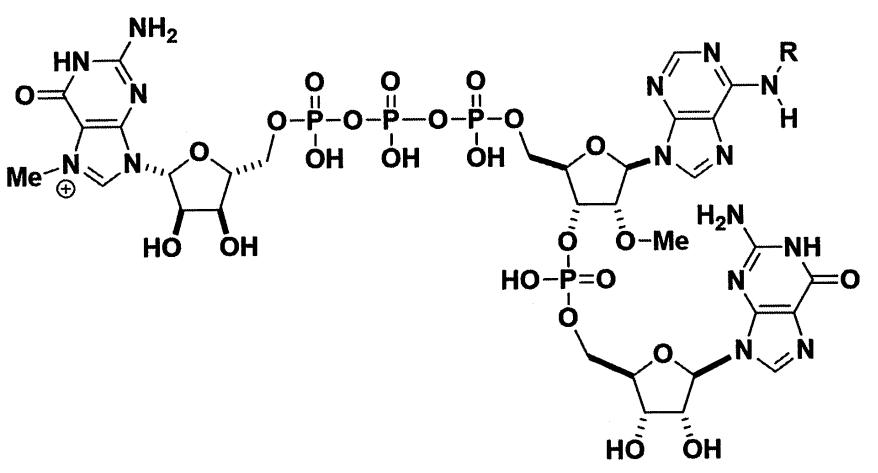
【化5】



【0165】

さらに他の実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

【化6】



【0166】

トリヌクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列：G A A、G A C、G A G、G A U、G C A、G C C、G C G、G C U、G G A、G G C、G G G、G G U、G U A、G U C、G U G、及びG U Uから選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G A Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G A Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G A Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G A Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G C Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G C Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G C Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G C Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G G Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G G Gを含むいくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G G Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G U Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G U Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、G U

40

50

G を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキヤップは、G U Uを含む。

【 0 1 6 7 】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： $m^7GpppApA$ 、 $m^7GpppApC$ 、 $m^7GpppApG$ 、 $m^7GpppApU$ 、 $m^7GpppCpA$ 、 $m^7GpppCpC$ 、 $m^7GpppCpG$ 、 $m^7GpppCpU$ 、 $m^7GpppGpA$ 、 $m^7GpppGpC$ 、 $m^7GpppGpG$ 、 $m^7GpppGpU$ 、 $m^7GpppUpA$ 、 $m^7GpppUpC$ 、 $m^7GpppUpG$ 、及び $m^7GpppUpU$ から選択される配列を含む。

【 0 1 6 8 】

いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppApA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppApC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppApG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppApU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppCpA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppCpC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppCpG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppCpU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppGpA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppGpC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppGpG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppGpU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppUpA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppUpC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppUpG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリニクレオチドキップは、 $m^7GpppUpU$ を含む。

【 0 1 6 9 】

トリヌクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列： $m^7G_3\text{ OMe}$
 pppApA 、 $m^7G_3\text{ OMepppApC}$ 、 $m^7G_3\text{ OMepppApG}$ 、 m^7G_3
 OMepppApU 、 $m^7G_3\text{ OMepppCpA}$ 、 $m^7G_3\text{ OMepppCpC}$ 、 m^7G_3
 OMepppCpG 、 $m^7G_3\text{ OMepppCpU}$ 、 $m^7G_3\text{ OMepppGpA}$ 、 m^7G_3
 OMepppGpC 、 $m^7G_3\text{ OMepppGpG}$ 、 $m^7G_3\text{ OMepppGpU}$ 、 m^7G_3
 OMepppUpA 、 $m^7G_3\text{ OMepppUpC}$ 、 $m^7G_3\text{ OMepppUpG}$ 、及び $m^7G_3\text{ OMepppUpU}$ から選択される配列を含む。

【 0 1 7 0 】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppApA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppApC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppApG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppApU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppCpA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppCpC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppCpG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppCpU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppGpA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppGpC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppGpG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppGpU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppUpA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppUpC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7G_3\text{ OMe}pppUpG$ を含む。

Gを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMeppp pUpUを含む。

【0171】

トリスクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列：m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppA、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppC、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppG、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppU、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppA、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppC、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppG、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppU、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppA、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppC、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppG、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppU、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppA、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppC、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppG、及びm⁷G₃ OMepppU₂ OMeppUから選択される配列を含む。
10

【0172】

いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppA₂ OMeppUを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppC₂ OMeppUを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppG₂ OMeppUを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G₃ OMepppU₂ OMeppUを含む。
20

【0173】

トリスクレオチドキャップは、さらにいくつかの実施形態では、以下の配列：m⁷G_ppppA₂ OMeppA、m⁷G_ppppA₂ OMeppC、m⁷G_ppppA₂ OMeppG、m⁷G_ppppA₂ OMeppU、m⁷G_ppppC₂ OMeppA、m⁷G_ppppC₂ OMeppC、m⁷G_ppppC₂ OMeppG、m⁷G_ppppC₂ OMeppU、m⁷G_ppppG₂ OMeppA、m⁷G_ppppG₂ OMeppC、m⁷G_ppppG₂ OMeppG、m⁷G_ppppG₂ OMeppU、m⁷G_ppppU₂ OMeppA、m⁷G_ppppU₂ OMeppC、m⁷G_ppppU₂ OMeppG、及びm⁷G_ppppU₂ OMeppUから選択される配列を含む。
30

【0174】

いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppA₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppA₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppA₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppC₂ OMeppUを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppC₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppC₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppC₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppC₂ OMeppUを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppU₂ OMeppAを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppU₂ OMeppCを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppU₂ OMeppGを含む。いくつかの実施形態では、トリスクレオチドキャップは、m⁷G_ppppU₂ OMeppUを含む。
40

10

20

30

40

50

レオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}G_2\text{OMe}pA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}G_2\text{OMe}pC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}G_2\text{OMe}pG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}G_2\text{OMe}pU$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}U_2\text{OMe}pA$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}U_2\text{OMe}pC$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}U_2\text{OMe}pG$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、 $m^7G\text{ppp}U_2\text{OMe}pU$ を含む。

【0175】

10

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、GAGを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、GCGを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、GUGを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキップは、GGGを含む。

【0176】

インビトロ転写方法

本開示のいくつかの態様は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型をRNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアントなどのT7 RNAポリメラーゼ）と接触させることを含む、RNA転写物（例えば、mRNA転写物）を生成（合成）する方法を提供する。

20

【0177】

いくつかの実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を、S43A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリアント（例えば、S43A T7 RNAPバリアントまたはS43A*T7 RNAPバリアント）と接触させることを含む。他の実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を、G47A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリアント（例えば、G47A T7 RNAPバリアントまたはG47A*T7 RNAPバリアント）と接触させることを含む。さらに他の実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を、R257A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリアント（例えば、R257A T7 RNAPバリアントまたはR257A*T7 RNAPバリアント）と接触させることを含む。さらに他の実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を、G259A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリアント（例えば、G259A T7 RNAPバリアントまたはG259A*T7 RNAPバリアント）と接触させることを含む。

30

【0178】

いくつかの実施形態では、本方法は、DNA鑄型を（少なくとも1つの）追加のC末端アミノ酸（例えば、Gly、Ala、GlyGly、AlaAla、GlyAla、またはAlaGly）を含むT7 RNAポリメラーゼバリアントと接触させることを含む。

40

【0179】

いくつかの実施形態では、本方法は、DNA鑄型を、E42R、S43A、S43E、S43L、S43R、E45R、E45L、M46A、G47A、G47E、G47L、G47R、N165W、E167M、E167N、E168I、E168T、E168V、A181F、A181W、G184M、E187F、A255Q、A255K、A255I、A255Y、R257A、R257E、R257L、R257W、G259A、G259E、G259L、G259R、A260W、またはA260R置換、または前述の置換のうちの2つ以上及び任意選択による追加のC末端アミノ酸（例えば、Gly、Ala、GlyGly、AlaAla、GlyAla、またはAlaGly）の任意の組み合わせを含むT7 RNAポリメラーゼバリアントと接触させることを含む。

50

【 0 1 8 0 】

いくつかの態様では、本開示は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、DNA鑄型をRNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアントなどのT7 RNAポリメラーゼ）と接触させることを含む、IVT反応を行う方法を提供する。

【 0 1 8 1 】

本開示の他の態様は、インビトロ転写物を生成するための条件下で、ポリヌクレオチド鑄型をT7 RNAポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させてRNA転写物を生成することを含む、共転写キャッピング方法を提供する。

【 0 1 8 2 】

いくつかの実施形態では、RNA合成のための共転写キャッピング方法は、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を(a) T7 RNAポリメラーゼバリアントであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリアントの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T7 RNAポリメラーゼバリアント、(b)ヌクレオシド三リン酸、及び(c)配列G p p p A₂ O m e p Gを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含み、ポリヌクレオチド鑄型が、鑄型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。

【 0 1 8 3 】

IVT条件は、典型的には、プロモーター、ヌクレオシド三リン酸、ジチオトレイトール(DTT)及びマグネシウムイオンを含む緩衝系、ならびにRNAポリメラーゼを含む精製した線形DNA鑄型を必要とする。転写反応で使用される正確な条件は、特定の用途に必要なRNAの量に依拠する。典型的なIVT反応は、転写緩衝液中でDNA鑄型をRNAポリメラーゼ及びGTP、ATP、CTP、UTP(またはヌクレオチド類似体)を含むヌクレオシド三リン酸とともにインキュベートすることにより行われる。5'末端グアノシン三リン酸を有するRNA転写物は、この反応から生成される。

【 0 1 8 4 】

デオキシリボ核酸(DNA)は、単にRNAポリメラーゼの核酸鑄型である。DNA鑄型は、目的のポリペプチド(例えば、抗原性ポリペプチド)をコードするポリヌクレオチドを含み得る。DNA鑄型は、いくつかの実施形態では、目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドから5'に位置し、該ポリヌクレオチドに機能的に連結されたRNAポリメラーゼプロモーター(例えば、T7 RNAポリメラーゼプロモーター)を含む。DNA鑄型は、目的の遺伝子の3'末端に位置するポリアデニル化(ポリア)テールをコードするヌクレオチド配列も含み得る。

【 0 1 8 5 】

目的のポリペプチドには、生物製剤、抗体、抗原(ワクチン)、及び治療用タンパク質が含まれるが、これらに限定されない。「タンパク質」という用語には、ペプチドが含まれる。

【 0 1 8 6 】

RNA転写物は、いくつかの実施形態では、IVT反応の産物である。RNA転写物は、いくつかの実施形態では、ポリア尾部に連結された目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むメッセンジャーRNA(mRNA)である。いくつかの実施形態では、mRNAは、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む修飾されたmRNA(mmRNA)である。

【 0 1 8 7 】

ヌクレオチドは、窒素塩基、五炭糖(リボースまたはデオキシリボース)、及び少なくとも1つのリン酸基を含む。ヌクレオチドには、ヌクレオシドーリン酸、ヌクレオシド二リン酸、及びヌクレオシド三リン酸が含まれる。ヌクレオシドーリン酸(NMP)には、リボースに結合した核酸塩基及び1つのリン酸が含まれる。ヌクレオシド二リン酸(ND

10

20

30

40

50

P) には、リボースに結合した核酸塩基及び 2 つのリン酸が含まれる。ヌクレオシド三リン酸 (NTP) には、リボースに結合した核酸塩基及び 3 つのリン酸が含まれる。ヌクレオチド類似体は、ヌクレオチドの一般構造を有するか、またはヌクレオチドに構造的に類似した化合物である。ヌクレオチド類似体には、例えば、核酸塩基の類似体、糖の類似体、及び / またはヌクレオチドのリン酸基 (複数可) の類似体が含まれる。

【 0188 】

ヌクレオシドは、窒素塩基及び五炭糖を含む。したがって、ヌクレオシドとリン酸基とにより、ヌクレオチドとなる。ヌクレオシド類似体は、ヌクレオシドの一般構造を有するか、またはヌクレオシドに構造的に類似した化合物である。例えば、ヌクレオシド類似体には、核酸塩基の類似体及び / またはヌクレオシドの糖の類似体が含まれる。

10

【 0189 】

「ヌクレオチド」という用語には、別段で明記しない限り、天然に存在するヌクレオチド、合成ヌクレオチド、及び修飾ヌクレオチドが含まれることを理解されたい。本明細書で提供される、例えば I VT 反応において RNA の生成に使用される天然に存在するヌクレオチドの例には、アデノシン三リン酸 (ATP) 、グアノシン三リン酸 (GTP) 、シチジン三リン酸 (CTP) 、ウリジン三リン酸 (UTP) 、及び 5 - メチルウリジン三リン酸 (m⁵UTP) が含まれる。いくつかの実施形態では、アデノシンニリン酸 (ADP) 、グアノシンニリン酸 (GDP) 、シチジンニリン酸 (CDP) 、及び / またはウリジンニリン酸 (UDP) が使用される。

【 0190 】

ヌクレオチド類似体の例には、抗ウイルスヌクレオチド類似体、リン酸類似体（可溶性または固定化（immobilized）、加水分解性または非加水分解性）、ジヌクレオチド、トリヌクレオチド、テトラヌクレオチド、例えば、キャップ類似体、または酵素キャッピングの前駆体 / 基質（ワクシニアまたはリガーゼ）、キャップもしくは 5' 部分 (IRES) のライゲーション / コンジュゲーションを促進するための官能基で標識されたヌクレオチド、キャップもしくは 5' 部分のライゲーションを促進するための 5' PO₄ で標識されたヌクレオチド、または化学的もしくは酵素的に切断することができる官能基 / 保護基で標識されたヌクレオチが含まれるが、これらに限定されない。抗ウイルスヌクレオチド / ヌクレオシド類似体の例には、ガンシクロビル、エンテカビル、テルビブジン、ビダラビン、及びシドフォビルが含まれるが、これらに限定されない。

20

【 0191 】

修飾ヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含み得る。例えば、本開示の RNA 転写物（例えば、mRNA 転写物）は、シュードウリジン () 、 1 - メチルシュードウリジン (m1) 、 1 - エチルシュードウリジン、 2 - チオウリジン、 4' - チオウリジン、 2 - チオ - 1 - メチル - 1 - デアザ - シュードウリジン、 2 - チオ - 1 - メチル - シュードウリジン、 2 - チオ - 5 - アザ - ウリジン、 2 - チオ - ジヒドロシュードウリジン、 2 - チオ - ジヒドロウリジン、 2 - チオ - シュードウリジン、 4 - メトキシ - 2 - チオ - シュードウリジン、 4 - メトキシ - シュードウリジン、 4 - チオ - 1 - メチル - シュードウリジン、 4 - チオ - シュードウリジン、 5 - アザ - ウリジン、 ジヒドロシュードウリジン、 5 - メチルウリジン、 5 - メトキシウリジン (m05U) 、及び 2' - O - メチルウリジンから選択される修飾核酸塩基を含み得る。いくつかの実施形態では、RNA 転写物（例えば、mRNA 転写物）には、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも 2 つ（例えば、2、3、4 つまたはそれ以上）の組み合わせが含まれる。

30

【 0192 】

本明細書で提供されるヌクレオシド三リン酸 (NTP) は、非修飾もしくは修飾 ATP 、修飾もしくは非修飾 UTP 、修飾もしくは非修飾 GTP 、及び / または修飾もしくは非修飾 CTP を含み得る。いくつかの実施形態では、I VT 反応の NTP は、非修飾 ATP を含む。いくつかの実施形態では、I VT 反応の NTP は、修飾 ATP を含む。いくつかの実施形態では、I VT 反応の NTP は、非修飾 UTP を含む。いくつかの実施形態では、I VT 反応の NTP は、修飾 UTP を含む。いくつかの実施形態では、I VT 反応の N

40

50

T Pは、非修飾G T Pを含む。いくつかの実施形態では、I V T反応のN T Pは、修飾G T Pを含む。いくつかの実施形態では、I V T反応のN T Pは、非修飾C T Pを含む。いくつかの実施形態では、I V T反応のN T Pは、修飾C T Pを含む。

【0193】

I V T反応において存在するヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体の濃度は変動し得る。いくつかの実施形態では、N T P及びキャップ類似体は、反応において等モル濃度で存在する。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1：1より大きい。例えば、反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、15：1、20：1、25：1、50：1、または100：1であり得る。¹⁰ いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1：1未満である。例えば、反応におけるキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：15、1：20、1：25、1：50、または1：100であり得る。

【0194】

I V T反応におけるN T Pの組成も変化し得る。例えば、A T Pは、G T P、C T P、及びU T Pより超過して使用され得る。非限定的な例として、I V T反応には、7.5ミリモルのG T P、7.5ミリモルのC T P、7.5ミリモルのU T P、及び3.75ミリモルのA T Pが含まれ得る。同じI V T反応には、3.75ミリモルのキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）が含まれ得る。²⁰ いくつかの実施形態では、G：C：U：A：キャップのモル比は、1：1：1：0.5：0.5である。いくつかの実施形態では、G：C：U：A：キャップのモル比は、1：1：0.5：1：0.5である。いくつかの実施形態では、G：C：U：A：キャップのモル比は、1：0.5：1：1：0.5である。いくつかの実施形態では、G：C：U：A：キャップのモル比は、0.5：1：1：1：0.5である。

【0195】

いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、シュードウリジン（）、1-メチルシュードウリジン（m¹）、5-メトキシウリジン（m o⁵ U）、5-メチルシチジン（m⁵ C）、-チオグアノシン、及び-チオアデノシンから選択される修飾核酸塩基が含まれる。³⁰ いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも2つ（例えば、2、3、4つまたはそれ以上）の組み合わせが含まれる。

【0196】

いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えばm R N A転写物）には、シュードウリジン（）が含まれる。いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、1-メチルシュードウリジン（m¹）が含まれる。いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、5-メトキシウリジン（m o⁵ U）が含まれる。いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、5-メチルシチジン（m⁵ C）が含まれる。いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、-チオ-グアノシンが含まれる。いくつかの実施形態では、R N A転写物（例えば、m R N A転写物）には、-チオ-アデノシンが含まれる。⁴⁰

【0197】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、m R N AポリヌクレオチドなどのR N Aポリヌクレオチド）は、特定の修飾のために均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、配列全体にわたって修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドを1-メチルシュードウリジン（m¹）で均一に修飾することができ、このことは、m R N A配列中のすべてのウリジン残基が1-メチルシュードウリジン（m¹）で置換されることを意味する。同様に、ポリヌクレオチドは、上記のもののうちのいずれかなどの修飾残基での

10

20

30

40

50

置換により、配列中に存在する任意の種類のヌクレオシド残基について均一に修飾することができる。あるいは、ポリヌクレオチド（例えば、mRNAポリヌクレオチドなどのRNAポリヌクレオチド）は、均一に修飾されていなくてもよい（例えば、部分的に修飾され、配列の一部が修飾されている）。各々の選択肢は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0198】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、トリス（tris）を含む。例えば、IVT反応で使用されるトリスの濃度は、少なくとも10 mM、少なくとも20 mM、少なくとも30 mM、少なくとも40 mM、少なくとも50 mM、少なくとも60 mM、少なくとも70 mM、少なくとも80 mM、少なくとも90 mM、少なくとも100 mM、または少なくとも110 mMのリン酸塩である。いくつかの実施形態では、リン酸塩の濃度は、20~60 mMまたは10~100 mMである。10

【0199】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、ジチオトレイトル（DTT）を含む。IVT反応で使用されるDTTの濃度は、例えば、少なくとも1 mM、少なくとも5 mM、または少なくとも50 mMであり得る。いくつかの実施形態では、IVT反応で使用されるDTTの濃度は、1~50 mMまたは5~50 mMである。いくつかの実施形態では、IVT反応で使用されるDTTの濃度は、5 mMである。

【0200】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、マグネシウムを含む。いくつかの実施形態では、IVT反応において存在するNTPとマグネシウムイオン（Mg²⁺；例えばMgCl₂）とのモル比は、1:1~1:5である。例えば、NTPとマグネシウムイオンとのモル比は、1:1、1:2、1:3、1:4、または1:5であり得る。20

【0201】

いくつかの実施形態では、IVT反応において存在するNTP及びキャップ類似体（例えば、GAGなどのトリヌクレオチドキャップ）とマグネシウムイオン（Mg²⁺；例えばMgCl₂）とのモル比は、1:1~1:5である。例えば、NTP+トリヌクレオチドキャップ（例えば、GAG）とマグネシウムイオンとのモル比は、1:1、1:2、1:3、1:4、または1:5であり得る。

【0202】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、Tris-HCl、スペルミジン（例えば、1~30 mMの濃度）、TRITON（登録商標）X-100（ポリエチレンギリコールp-（1,1,3,3-テトラメチルブチル）-フェニルエーテル）、及び/またはポリエチレンギリコール（PEG）を含む。30

【0203】

成長中のRNA鎖の3'末端へのヌクレオシド三リン酸（NTP）の付加は、T7 RNAポリメラーゼなどのポリメラーゼ、例えば、本開示のT7 RNAポリメラーゼバリアントのいずれか1つ以上（例えば、S43A及び/またはG47A）によって触媒される。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアント）は、0.01 mg/ml~1 mg/mlの濃度で反応（例えば、IVT反応）において存在する。例えば、RNAポリメラーゼは、0.01 mg/ml、0.05 mg/ml、0.1 mg/ml、0.5 mg/ml、または1.0 mg/mlの濃度で反応において存在し得る。40

【0204】

驚くべきことに、例えば、インビトロ転写反応において、本明細書で提供されるT7 RNAPバリアント（例えば、E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、またはG259、例えばS43AまたはG47A）とキャップ類似体（例えば、GpppA₂OmePG）とを組み合わせて使用すると、RNA転写物が生成され、生成されたRNA転写物の80%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の85%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の90%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態で50

は、生成されたRNA転写物の95%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の96%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の97%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の98%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の99%超が機能性キャップを含む。

【0205】

また、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基または2'-デオキシシチジン残基を含むポリヌクレオチド鋳型を使用すると、RNA転写物が生成され、生成されたRNA転写物の80%超（例えば、85%超、90%超、または95%超）が機能性キャップを含むことが見出されたことは驚くべきことであった。したがって、いくつかの実施形態では、例えばIVT反応で使用されるポリヌクレオチド（例えばDNA）鋳型は、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。他の実施形態では、例えばIVT反応で使用されるポリヌクレオチド（例えばDNA）鋳型は、鋳型位置+1に2'-デオキシシチジン残基を含む。

10

【0206】

用途

本開示に従って生成されたRNA転写物には、mRNA（修飾mRNA及び/または非修飾RNAを含む）、lncRNA、自己複製RNA、環状RNA、CRISPRガイドRNAなどが含まれる。実施形態では、RNAは、ポリペプチド（例えば、治療用ポリペプチド）をコードするRNA（例えばmRNAまたは自己複製RNA）である。したがって、本開示のRNAポリメラーゼバリエントを使用して生成されたRNA転写物は、非常に多くの用途で使用され得る。

20

【0207】

例えば、RNA転写物は、目的のポリペプチド、例えば治療用タンパク質、ワクチン抗原などを生成するために使用され得る。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、治療用RNAである。治療用mRNAは、治療用タンパク質をコードするmRNAである（「タンパク質」という用語には、ペプチドが含まれる）。治療用タンパク質は、宿主細胞または対象における様々な効果を媒介して、疾患を治療し、または疾患の徵候及び症状を改善する。例えば、治療用タンパク質は、欠損または異常なタンパク質を置換し、内因性タンパク質の機能を増強し、細胞に新規機能を提供する（例えば、内因性細胞活性を阻害もしくは活性化し、または別の治療用化合物（例えば、抗体-抗体コンジュゲートなど）のための送達剤として作用する）。治療用mRNAは、以下の疾患及び状態：細菌感染症、ウイルス感染症、寄生虫感染症、細胞増殖障害、遺伝障害、及び自己免疫障害の治療に有用であり得る。他の疾患及び状態が本明細書において包含される。

30

【0208】

本明細書で提供されるmRNAによってコードされる目的のタンパク質は、本質的に任意のタンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、サイトカイン、成長因子、抗体、または融合タンパク質である。治療用タンパク質の非限定的な例には、血液因子（VII因子及びVIII因子など）、補体因子、低密度リポタンパク質受容体（LDLR）、及びMUT1が含まれる。サイトカインの非限定的な例には、インターロイキン、インターフェロン、ケモカイン、リンホカインなどが含まれる。成長因子の非限定的な例には、エリスロポエチン、EGF、PDGF、FGF、TGF、IGF、TNF、CSF、MCSF、GMCSFなどが含まれる。抗体の非限定的な例には、アドリムマブ、インフリキシマブ、リツキシマブ、イピリムマブ、トリザズマブ、カナキヌマブ、イトリズマブ、トラロキヌマブが含まれる。融合タンパク質の非限定的な例には、例えば、エタネルセプト、アバタセプト、及びベラタセプトが含まれる。

40

【0209】

いくつかの実施形態では、目的のタンパク質は、ヒトエリスロポエチン、LDLR（コレステロールの阻害に使用）、またはMUT1（メチルマロン酸血症（MMA）の治療に使用）である。他の実施形態では、mRNAによってコードされる目的のタンパク質は、

50

治療抗体であり、上記抗体を含むがこれらに限定されない。

【 0 2 1 0 】

本明細書に開示される R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物は、1つ以上の生物製剤をコードし得る。生物製剤は、重篤なもしくは生命を脅かす疾患または状態の治療、治癒、緩和、予防、または診断に使用され得るポリペプチドベースの分子である。生物学には、特に、アレルゲン抽出物（例えば、アレルギー注射（shot）及び検査用）、血液成分、遺伝子治療製品、移植に使用されるヒト組織または細胞製品、ワクチン、モノクローナル抗体、サイトカイン、成長因子、酵素、血栓溶解剤、及び免疫調整剤が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 2 1 1 】

現在市販されているまたは開発中の1つ以上の生物製剤は、本発明の R N A によってコードされ得る。理論に拘束されることを望まないが、既知の生物製剤のコード化ポリヌクレオチドを本開示の R N A に組み込むと、構築設計物の特異性、純度、及び／または選択性に少なくとも部分的に起因して、治療効果の改善がもたらされると考えられる。

【 0 2 1 2 】

本明細書に開示される R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物は、1つ以上の抗体をコードし得る。「抗体」という用語には、モノクローナル抗体（免疫グロブリン F c 領域を有する全長抗体を含む）、ポリエピトープ特異性を有する抗体組成物、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体、ダイアボディ、及び单鎖分子）、及び抗体断片が含まれる。「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書において「抗体」と互換的に使用される。モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体である。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、わずかな量で存在し得る起こり得る天然に存在する変異及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除いて同一である。モノクローナル抗体は非常に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。

【 0 2 1 3 】

モノクローナル抗体には、具体的には、重鎖及び／または軽鎖の一部が、特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であり、鎖（複数可）の残りが、別の抗体に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同である、キメラ抗体（免疫グロブリン）、及び所望の生物学的活性を示す限り、そのような抗体の断片が含まれる。キメラ抗体には、非ヒト靈長類（例えば、旧世界猿、類人猿など）及びヒト定常領域配列に由来する可変ドメイン抗原結合配列を含む「靈長類化（primatized）」抗体が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 2 1 4 】

本開示の R N A にコードされる抗体は、血液、心臓血管、C N S、中毒（抗毒素を含む）、皮膚病学、内分泌学、胃腸、医用画像、筋骨格、腫瘍学、免疫学、呼吸器、感覚、及び抗感染症などの多くの治療分野における状態または疾患を治療するために利用され得る。

【 0 2 1 5 】

本明細書に開示される R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物は、1つ以上のワクチン抗原をコードし得る。ワクチン抗原は、特定の疾患または感染因子に対する免疫を改善する生物学的製剤である。現在市販されているまたは開発中の1つ以上のワクチン抗原は、本開示の R N A によってコードされ得る。R N A にコードされたワクチン抗原は、がん、アレルギー、感染症などの多くの治療分野における状態または疾患を治療するために利用され得る。いくつかの実施形態では、がんワクチンは、コンカティマーまたはペプチドエピトープをコードする個々の R N A またはそれらの組み合わせの形態の個別化されたがんワクチンであり得る。

【 0 2 1 6 】

本明細書に開示される R N A ポリメラーゼバリアントを使用して生成された R N A 転写物は、1つ以上の抗菌ペプチド（A M P）または抗ウイルスペプチド（A V P）をコード

10

20

30

40

50

するように設計され得る。AMP及びAVPは、限定するものではないが、微生物、無脊椎動物、植物、両生類、鳥類、魚類、及び哺乳類などの広範囲の動物から単離及び記述されている。抗菌ポリペプチドは、細胞融合及び／または1つ以上のエンベロープウイルス（例えば、HIV、HCV）によるウイルス侵入を遮断し得る。例えば、抗菌ポリペプチドは、領域、例えば、ウイルスエンベローブタンパク質、例えばHIV-1 gp120またはgp41の膜貫通サブユニットの少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、または60個のアミノ酸の連続配列に対応する合成ペプチドを含むか、またはそれからなることができる。HIV-1 gp120またはgp41のアミノ酸及びヌクレオチド配列は、例えば、Kuiken et al., (2008)「HIV Sequence Compendium」, Los Alamos National Laboratoryに記載されている。

【0217】

いくつかの実施形態では、RNA転写物は、放射標識RNAプローブとして使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、非同位体RNA標識のために使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、遺伝子ターゲティングのためのガイドRNA（gRNA）として使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物（例えば、mRNA）は、インビトロ翻訳及び微量注入に使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、RNA構造、プロセシング、及び触媒研究に使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、RNA增幅に使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、遺伝子発現実験のためのアンチセンスRNAとして使用される。他の用途が本開示に包含される。

【0218】

組成物

本開示のT7 RNA Pバリエントは、いくつかの実施形態では、IVT反応においてトリヌクレオチドキャップなどのキャップ類似体と組み合わせて使用されるとき、IVT後の精製がなくても、検出可能なサイトカイン応答を誘導しないRNAを生成する。したがって、いくつかの実施形態では、IVT RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、IVT後の精製なしで、サイトカイン誘導RNA混入物を実質的に含まない（例えば、含まないか、または10%未満、1%未満、0.1%未満、または0.01%未満含む）、該組成物が本明細書で提供される。

【0219】

本明細書の他の箇所で説明するように、本開示のT7 RNA Pバリエント及び本開示の方法はRNA転写物を生成し、該転写物の少なくとも80%（例えば、80%～90%、80～95%、90～95%、80～99%、90～99%、または90～100%）は機能的なキャップを含む。したがって、IVT RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物も本明細書で提供され、組成物は、20%（例えば、5～15%、5～10%、1～15%、または1～10%）未満のキャップされていないRNA種を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、15%（例えば、5～10%、1～10%、または1～5%）未満のキャップされていないRNA種を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、10%未満のキャップされていないRNA種を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、5%未満のキャップされていないRNA種を含む。

【0220】

いくつかの実施形態では、IVT RNAの80%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの85%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの90%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの95%超が機能性キャップを含む。

【0221】

いくつかの実施形態では、IVT RNAは化学修飾されていないが、他の実施形態では、IVT RNAは化学修飾されている。

【0222】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、予想外に、IVT RNA の 80 % 超が一本鎖完全長転写物を含む。例えば、IVT RNA の 85 % 超が一本鎖完全長転写物を含み得る。いくつかの実施形態では、IVT RNA の 90 % 超が一本鎖完全長転写物を含み、IVT RNA の 95 % 超が一本鎖完全長転写物を含む。

【0223】

いくつかの実施形態では、RNA は、RNA 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド錠型を (a) T7 RNA ポリメラーゼバリアントであって、野生型 RNA ポリメラーゼと比較して、該 RNA ポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて RNA ポリメラーゼバリアントの少なくとも 1 つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、該 T7 RNA ポリメラーゼバリアント、(b) ヌクレオシド三リシン酸、及び (c) 配列 G p p p A₂ Ome p G を含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含む方法によって生成され、ポリヌクレオチド錠型は、錠型位置 + 1 に 2' - デオキシチミジン残基を含む。

【0224】

キット

本開示の RNA ポリメラーゼバリアントを含むインビトロ転写キットなどのキットも本明細書で提供される。キットは、本明細書に記載の任意の 1 つ以上（少なくとも 1 つ）の IVT 成分及び任意の 1 つ以上（少なくとも 1 つ）の RNA ポリメラーゼバリアントを含み得る。例えば、キットは、緩衝系、NTP、及び位置 E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、A258、G259、A260、L261 及び / または A262 における少なくとも 1 つ（もしくは少なくとも 2 つ、または少なくとも 3 つ）のアミノ酸置換ならびに任意選択により C 末端において少なくとも 1 つのアミノ酸付加を有する配列番号 1、99、または 100 のアミノ酸配列を有する T7 RNA ポリメラーゼバリアントを含み得る。

【0225】

追加の実施形態

本開示の追加の実施形態には、以下の番号の段落のものが含まれる：

段落 1 . リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼバリアントであって、野生型 RNA ポリメラーゼと比較して、前記 RNA ポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて前記 RNA ポリメラーゼバリアントの少なくとも 1 つのループ構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、前記リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼバリアント。

【0226】

段落 2 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、野生型アミノ酸と比較して高いヘリックス性向を有する、段落 1 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【0227】

段落 3 . 前記 RNA ポリメラーゼが、T7 RNA ポリメラーゼである、段落 1 または 2 に記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【0228】

段落 4 . 前記少なくとも 1 つのループ構造が、C ヘリックス構造中にある、段落 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【0229】

段落 5 . 前記少なくとも 1 つのループ構造が、C リンカー構造中にある、段落 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【0230】

段落 6 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、少なくとも 1 つの高ヘリックス性向アミノ酸置換である、段落 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼバリアント。

【0231】

段落 7 . 前記少なくとも 1 つの高ヘリックス性向アミノ酸置換が、アラニン、イソロイシン、

10

20

30

40

50

ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸から選択される、段落 6 に記載の R N A ポリメラーゼバリアント。

【 0 2 3 2 】

段落 8 . 前記少なくとも 1 つの高ヘリックス性向アミノ酸置換が、アラニンである、段落 7 に記載の R N A ポリメラーゼバリアント。

【 0 2 3 3 】

段落 9 . 前記 T 7 R N A ポリメラーゼが、E 4 2 、 S 4 3 、 Y 4 4 、 E 4 5 、 M 4 6 、 G 4 7 、 R 2 5 7 、 及び G 2 5 9 から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 、 配列番号 9 9 、 または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 4 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の R N A ポリメラーゼバリアント。 10

【 0 2 3 4 】

段落 1 0 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、S 4 3 A を含む、段落 9 に記載の R N A ポリメラーゼバリアント。

【 0 2 3 5 】

段落 1 1 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、G 4 7 A を含む、段落 9 に記載の R N A ポリメラーゼバリアント。

【 0 2 3 6 】

段落 1 2 . 前記 T 7 R N A ポリメラーゼが、R 2 5 7 、 A 2 5 8 、 G 2 5 9 、 A 2 6 0 、 L 2 6 1 及び A 2 6 2 から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 、 配列番号 9 9 、 または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 5 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の R N A ポリメラーゼバリアント。 20

【 0 2 3 7 】

段落 1 3 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、R 2 5 7 A を含む、段落 1 2 に記載の R N A ポリメラーゼバリアント。

【 0 2 3 8 】

段落 1 4 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、G 2 5 9 A を含む、段落 1 2 に記載の R N A ポリメラーゼバリアント。

【 0 2 3 9 】

段落 1 5 . G 4 7 、 S 4 3 、 R 2 5 7 、 または G 2 5 9 の位置における高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 、 配列番号 9 9 、 または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 リボ核酸 (R N A) ポリメラーゼ。 30

【 0 2 4 0 】

段落 1 6 . 前記高ヘリックス性向アミノ酸が、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び／またはグルタミン酸から選択される、段落 1 5 に記載の T 7 R N A ポリメラーゼ。

【 0 2 4 1 】

1 7 . 前記高ヘリックス性向アミノ酸が、アラニンである、段落 1 6 に記載の T 7 R N A ポリメラーゼ。 40

【 0 2 4 2 】

段落 1 8 . 配列番号 2 、 配列番号 1 0 7 、 または配列番号 1 0 8 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 R N A ポリメラーゼ。

【 0 2 4 3 】

段落 1 9 . 配列番号 3 、 配列番号 1 0 9 、 または配列番号 1 1 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 R N A ポリメラーゼ。

【 0 2 4 4 】

段落 2 0 . 配列番号 4 、 配列番号 1 1 1 、 または配列番号 1 1 2 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 R N A ポリメラーゼ。 50

【0245】

段落21. 配列番号5、配列番号113、または配列番号114によって特定されるアミノ酸配列を含む、T7 RNAポリメラーゼ。

【0246】

段落22. RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を段落1～21のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼと接触させることを含む、リボ核酸(RNA)を生成する方法。

【0247】

段落23. ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を段落1～21のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼと接触させることを含む、インビトロ転写(IVT)反応を行う方法。10

【0248】

段落24. 前記生成されたRNA転写物が、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、野生型RNAポリメラーゼを使用して生成されたRNAと比較して少なくとも50%低いサイトカイン応答を刺激する、段落23に記載の方法。

【0249】

段落25. IVTにより生成された前記二本鎖RNA転写物の濃度が、野生型ポリメラーゼを用いて生成されたdsRNA転写物と比較して少なくとも50%低い、段落23～24のいずれか1つに記載の方法。

【0250】

段落26. 前記生成されたRNA転写物の20%未満が、3'不均一性を示す、段落23～25のいずれか1つに記載の方法。20

【0251】

段落27. 前記生成されたRNA転写物の50%未満が、切断型RNA転写物である、段落23～26のいずれか1つに記載の方法。

【0252】

段落28. 前記生成されたRNA転写物の50%未満が、ランオンRNA転写物である、段落23～28のいずれか1つに記載の方法。

【0253】

段落29. 前記生成された完全長RNA転写物の量が、前記DNA鑄型の量よりも少なくとも15倍多い、段落23～28のいずれか1つに記載の方法。30

【0254】

段落30. 切断型RNA転写物：生成された完全長RNA転写物の比が、1:1未満である、段落23～29のいずれか1つに記載の方法。

【0255】

段落31. 前記生成されたRNA転写物が、前記DNA鑄型と比較して100ヌクレオチドあたり1未満の変異を有する、段落23～30のいずれか1つに記載の方法。

【0256】

段落32. 段落1～21のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼをコードする核酸。

【0257】

段落33. 段落33の核酸を含むベクター。40

【0258】

段落34. 段落33に記載の核酸または段落34に記載のベクターを含む宿主細胞。

【0259】

段落35. 段落1～21のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼを含むキット。

【0260】

段落36. 段落1～21のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼを含む組成物。

【0261】

段落37. 段落22～31のいずれか1つに記載の方法で生成されたリボ核酸(RNA)。50

【0262】

段落38. 脂質ナノ粒子中に製剤化された段落37に記載のRNA。

【0263】

段落39. 前記脂質ナノ粒子が、20～60%のイオン化可能なアミノ脂質、5～25%の非カチオン性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG修飾脂質のモル比を含む、段落38に記載のRNA。

【0264】

段落40. RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド錠型をT7 RNAポリメラーゼバリアント、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む、リボ核酸(RNA)合成のための共転写キャッピング方法。10

【0265】

段落41. 前記生成されたRNA転写物の80%超、85%超、または90%超が、機能性キャップを含む、段落40に記載の方法。

【0266】

段落42. 前記生成されたRNA転写物の95%超が、機能性キャップを含む、段落41に記載の方法。

【0267】

段落43. 前記ヌクレオシド三リン酸が、非修飾もしくは修飾ATP、修飾もしくは非修飾UTP、修飾もしくは非修飾GTP、及び/または修飾もしくは非修飾CTPを含む、段落40～42のいずれか1つに記載の方法。20

【0268】

段落44. 前記T7 RNAポリメラーゼバリアントが、段落1～21のいずれか1つに記載のT7ポリメラーゼバリアントである、段落40～43のいずれか1つに記載の方法。

【0269】

段落45. 前記T7ポリメラーゼバリアントが、E42、S43、Y44、E45、M46、G47、R257、及びG259から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1、配列番号99、または配列番号100によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落44に記載の方法。30

【0270】

段落46. 前記T7ポリメラーゼバリアントが、G47Aの位置にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1、配列番号99、または配列番号100によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落40～45のいずれか1つに記載の方法。

【0271】

段落47. 前記T7ポリメラーゼバリアントが、S43Aのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1、配列番号99、または配列番号100によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落40～45のいずれか1つに記載の方法。

【0272】

段落48. 前記ヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体が、前記反応において等モル濃度で存在する、段落40～47のいずれか1つに記載の方法。40

【0273】

段落49. 前記反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比が1：1より大きい、段落40～47のいずれか1つに記載の方法。

【0274】

50. 前記反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸のモル比が1：1未満である、段落40～47のいずれか1つに記載の方法。

【0275】

段落51. 前記キャップ類似体が、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである、段落40～50のいずれか1つに記載の50

方法。

【0276】

段落52. キ前記ヤップ類似体が、トリヌクレオチドキャップである、段落40～50のいずれか1つに記載の方法。

【0277】

段落53. 前記トリヌクレオチドキャップが、以下の配列：GAA、GAC、GAG、GAU、GCA、GCC、GCG、GCU、GGA、GGC、GGG、GGU、GUA、GUC、GUG、及びGUUから選択される配列を含む、段落51に記載の方法。

【0278】

段落54. 前記トリヌクレオチドキャップが、以下の配列： $m^7 G p p p A p A$ 、 $m^7 G p p p A p C$ 、 $m^7 G p p p A p G$ 、 $m^7 G p p p A p U$ 、 $m^7 G p p p C p A$ 、 $m^7 G p p p C p C$ 、 $m^7 G p p p C p G$ 、 $m^7 G p p p C p U$ 、 $m^7 G p p p G p A$ 、 $m^7 G p p G p C$ 、 $m^7 G p p G p G$ 、 $m^7 G p p G p U$ 、 $m^7 G p p p U p A$ 、 $m^7 G p p p U p C$ 、 $m^7 G p p p U p G$ 、及び $m^7 G p p p U p U$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。 10

【0279】

段落55. 前記トリヌクレオチドキャップが、以下の配列： $m^7 G_3 oMe p p p A p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p A p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p A p G$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p A p U$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C p G$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C p U$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G p G$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G p U$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p U p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p U p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p U p G$ 、及び $m^7 G_3 oMe p p p U p U$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。 20

【0280】

段落56. 前記トリヌクレオチドキャップが、以下の配列： $m^7 G_3 oMe p p p A_2 oMe p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p A_2 oMe p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p A_2 oMe p G$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p A_2 oMe p U$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C_2 oMe p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C_2 oMe p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C_2 oMe p G$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p C_2 oMe p U$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G_2 oMe p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G_2 oMe p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G_2 oMe p G$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p G_2 oMe p U$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p U_2 oMe p A$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p U_2 oMe p C$ 、 $m^7 G_3 oMe p p p U_2 oMe p G$ 、及び $m^7 G_3 oMe p p p U_2 oMe p U$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。 30

【0281】

段落57. 前記トリヌクレオチドキャップが、以下の配列： $m^7 G p p p A_2 oMe p A$ 、 $m^7 G p p p A_2 oMe p C$ 、 $m^7 G p p p A_2 oMe p G$ 、 $m^7 G p p p A_2 oMe p U$ 、 $m^7 G p p p C_2 oMe p A$ 、 $m^7 G p p p C_2 oMe p C$ 、 $m^7 G p p p C_2 oMe p G$ 、 $m^7 G p p p C_2 oMe p U$ 、 $m^7 G p p p G_2 oMe p A$ 、 $m^7 G p p p G_2 oMe p C$ 、 $m^7 G p p p G_2 oMe p G$ 、 $m^7 G p p p G_2 oMe p U$ 、 $m^7 G p p p U_2 oMe p A$ 、 $m^7 G p p p U_2 oMe p C$ 、 $m^7 G p p p U_2 oMe p G$ 、及び $m^7 G p p p U_2 oMe p U$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。 40

【0282】

段落58. 前記トリヌクレオチドキャップが、以下の配列：GAG、GCG、GUG、及びGGGから選択される配列を含む、段落53～57のいずれか1つに記載の方法。

【0283】

段落59. 前記トリヌクレオチドキャップが、配列GAGを含む、段落58に記載の方法。

【0284】

段落60. 前記トリヌクレオチドキャップが、 $G p p p A_2 oMe p G$ を含む、段落59に記載の方法。 50

【 0 2 8 5 】

段落 6 1 . 前記ポリヌクレオチド鑄型が、鑄型位置 + 1 に 2' - デオキシチミジン残基を含む、段落 4 0 ~ 6 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 8 6 】

段落 6 2 . 前記ポリヌクレオチド鑄型が、鑄型位置 + 1 に 2' - デオキシシチジン残基を含む、段落 4 0 ~ 6 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 8 7 】

段落 6 3 . R N A 合成のための共転写キャッピング方法であって、R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を (a) T 7 R N A ポリメラーゼバリアントであって、野生型 R N A ポリメラーゼと比較して、前記 R N A ポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて R N A ポリメラーゼバリアントの少なくとも 1 つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、前記 T 7 R N A ポリメラーゼバリアント、(b) ヌクレオシド三リン酸、及び (c) 配列 G p p p A 2 o m e p G を含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含み、前記ポリヌクレオチド鑄型が、鑄型位置 + 1 に 2' - デオキシチミジン残基を含む、前記方法。

10

【 0 2 8 8 】

段落 6 4 . 前記生成された R N A 転写物が、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、検出可能なサイトカイン応答を刺激しない、段落 4 0 ~ 6 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【 0 2 8 9 】

段落 6 5 . インビトロ転写 (I V T) R N A 及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、I V T 後の精製なしでサイトカイン誘導性 R N A 混入物を実質的に含まない、前記組成物。

【 0 2 9 0 】

段落 6 6 . インビトロ転写 (I V T) R N A 及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、5 % 未満のキャップされていない R N A 種を有する、前記組成物。

30

【 0 2 9 1 】

段落 6 7 . 前記 I V T R N A の 8 0 % 、 8 5 % 、または 9 0 % 超が機能性キャップを含む、段落 6 5 または 6 6 に記載の組成物。

【 0 2 9 2 】

段落 6 8 . 前記 I V T R N A の 9 5 % 超が機能性キャップを含む、段落 6 7 に記載の組成物。

【 0 2 9 3 】

段落 6 9 . 前記 I V T R N A が化学修飾されていない、段落 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【 0 2 9 4 】

段落 7 0 . 前記 I V T R N A が化学修飾されている、項 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

【 0 2 9 5 】

段落 7 1 . 前記 I V T R N A の 9 5 % 超が一本鎖完全長転写物を含む、段落 6 5 ~ 7 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【 0 2 9 6 】

段落 7 2 . 前記 R N A が、

R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を (a) T 7 R N A ポリメラーゼバリアントであって、野生型 R N A ポリメラーゼと比較して、前記 R N A ポリメラーゼバリアントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて R N A ポリメラーゼバリアントの少なくとも 1 つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、前記 T 7 R N A ポリメラーゼバリアント、(b) ヌクレオシド三リン酸、及び (c) 配列 G p p p A

50

$2^{\text{'}}\text{Ome}\beta\text{G}$ を含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含むプロセスによって生成され、前記ポリヌクレオチド錠型が、錠型位置 + 1 に $2^{\text{'}}\text{-デオキシチミジン残基}$ を含む、請求項 65 ~ 71 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【0297】

段落 73. 野生型 T7 RNA ポリメラーゼと比較して少なくとも 1 つの追加の C 末端アミノ酸を含む、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0298】

段落 74. 少なくとも 2 つの追加の C 末端アミノ酸を含む、段落 73 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0299】

段落 75. 前記少なくとも 2 つの追加の C 末端アミノ酸が、同じ種類のアミノ酸または少なくとも 2 つの異なる種類のアミノ酸を含む、段落 74 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

10

【0300】

段落 76. 1 ~ 10 個の追加の C 末端アミノ酸を含む、段落 73 ~ 75 のいずれか 1 つに記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0301】

段落 77. 1 ~ 5 個の追加の C 末端アミノ酸を含む、段落 76 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0302】

段落 78. 前記 T7 RNA ポリメラーゼが F A F A X_n (配列番号 171) モチーフを含む C 末端を含み、X が任意のアミノ酸であり、n がゼロより大きい任意の整数である、段落 73 ~ 77 のいずれか 1 つに記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

20

【0303】

段落 79. X が G または A であり、任意選択により、 X_n が GG または AA である、段落 78 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0304】

段落 80. n が 1、2、3、4、または 5 である、段落 78 または 79 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ

【0305】

段落 81. F A F A G (配列番号 329) モチーフを含む C 末端を含む、T7 RNA ポリメラーゼ。

30

【0306】

段落 82. X A F A X_n モチーフ、 F A X A X_n モチーフ、 F A X A X_n モチーフ、または F A F X X_n モチーフを含む C 末端を含み、各 X が任意のアミノ酸であり、n がゼロより大きい任意の整数である、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0307】

段落 83. 前記 T7 RNA ポリメラーゼが、野生型 T7 RNA ポリメラーゼの位置 S 43、G 47、R 257、または G 259 に対応する位置に少なくとも 1 つの置換及び任意選択により少なくとも 1 つの追加の置換を含む、段落 73 ~ 82 のいずれか 1 つに記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

40

【0308】

段落 84. 前記野生型 T7 RNA ポリメラーゼが、配列番号 1 により特定されるアミノ酸配列を含む、段落 83 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0309】

段落 85. G 47、S 43、R 257、及び G 259 から選択される少なくとも 1 つの置換、及び任意選択により少なくとも 1 つの追加のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 99 のアミノ酸配列を含む、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0310】

段落 86. G 47、S 43、R 257、及び G 259 から選択される少なくとも 1 つの

50

置換、及び任意選択により少なくとも1つの追加のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号100、294、296、または296のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、T7 RNAポリメラーゼ。

【0311】

段落87. S43A、G47A、R257A、及びG259Aから選択される少なくとも1つの置換を含む、段落83～86のいずれか1つに記載のT7 RNAポリメラーゼ。

【0312】

段落88. 配列番号294～313のいずれか1つのアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼであって、xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5（例えば、1、2、3、4、または5）であり、任意選択により、T7 RNAポリメラーゼが少なくとも1つの追加のアミノ酸置換をさらに含む、前記T7 RNAポリメラーゼ。

【0313】

段落89. ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA錠型を段落73～88のいずれかのRNAポリメラーゼと接触させることを含む、インビトロ転写（IVT）反応を行う方法。

【0314】

段落90. 前記生成されたRNAが、細胞に送達されたときに、WT T7 RNAPを用いて生成されたdsRNA転写物と比較して少なくとも50%低いサイトカイン応答を刺激する、段落89に記載の方法。

【0315】

91. 前記RNAが未精製の形態で細胞に送達される、段落90に記載の方法。

【0316】

段落92. 前記生成されたRNA転写物の30%未満が3'不均一性を示す、段落89～92のいずれか1つに記載の方法。

【0317】

段落93. 段落73～92のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼをコードする核酸。

【0318】

段落94. 段落93の核酸を含むベクター。

【0319】

段落95. 段落93の核酸または段落94のベクターを含む宿主細胞。

【0320】

段落96. 段落73～92のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼを含むキット。

【0321】

段落97. 段落73～92のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼを含む組成物。

【0322】

段落98. 段落89～92のいずれか1つに記載の方法によって生成されたリボ核酸（RNA）。

【0323】

段落99. 脂質ナノ粒子中に製剤化された段落98に記載のRNA。

【0324】

段落100. 前記脂質ナノ粒子が、20～60%のイオン化可能なアミノ脂質、5～25%の非カチオン性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG修飾脂質のモル比を含む、段落98に記載のRNA。

【0325】

段落101. 対応する野生型RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸を含むRNAポリメラーゼであって、任意選択により、少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸が、グリシン（G）及び/またはアラニン（A）を含む、前記RNAポリメラーゼ。

【0326】

10

20

30

40

50

段落 102. 前記 RNA ポリメラーゼが、T7 RNA ポリメラーゼ、T3 RNA ポリメラーゼ、及び S P 6 RNA ポリメラーゼから選択される、段落 101 に記載の RNA ポリメラーゼ。

【0327】

段落 103. 前記 RNA ポリメラーゼが、少なくとも 1 つの追加のアミノ酸置換をさらに含み、任意選択により、S 43A、G 47A、R 257A、及び G 259A から選択される配列番号 1 のアミノ酸置換に対応するアミノ酸置換をさらに含む、段落 101 または 102 に記載の RNA ポリメラーゼ。

【0328】

段落 104. 前記 RNA ポリメラーゼが、43 位、47 位、257 位、及び / または 259 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、または少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む T7 RNA ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼ。

10

【0329】

段落 105. 前記 RNA ポリメラーゼが、44 位、48 位、258 位、及び / または 260 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 6 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、または少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む T3 RNA ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼ。

20

【0330】

段落 106. 前記 RNA ポリメラーゼが、15 位、19 位、230 位、及び / または 232 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 7 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、または少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む S P 6 RNA ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼ。

20

【0331】

段落 107. 43 位、47 位、257 位、及び / または 259 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、または少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、T7 RNA ポリメラーゼ。

30

【0332】

段落 108. 44 位、48 位、258 位、及び / または 260 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 6 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、または少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、T3 RNA ポリメラーゼ。

30

【0333】

段落 109. 15 位、19 位、230 位、及び / または 232 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 7 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、または少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、S P 6 RNA ポリメラーゼ。

40

【表1】

表1. RNAポリメラーゼ配列

RNA ポリメ ラーゼ	アミノ酸配列	配列 番号
T 7 RNA ポリメ ラーゼ	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFEROLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACITSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKHVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAECIAATRAGA LAGISPMFQPCVPPPKWTGIGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVV MPEVYKAINIAQONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVODIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTKDSEIDAHKQESGIA NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESOLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	1 10
T 3 RNA ポリメ ラーゼ	MNIIENTEKNDFSEIELAAIPFNTLADHYGSALAKEQLALEHESYELGERF LKMLERQAKAGEIADNAAAKPLLATLLPKLTTRIVEWLEEYASKGRKPSAY APLQLLKPEASAFITLKVILASLTSTMNTTIQAAAGMLGKAIEDEARFGRIR DLEAKHFKKHVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLIGRGLLGGEAWS SWDKE TTMHVGIRLIEMLIESTGLVELQRHNAGNAGSDHEALQAEYVVDVLAKRAG ALAGISPMFQPCVPPPKWPVATGGYWANGRRPLALVRTHSKGLMRYEDV YMPEVYKAVNLAQONTAWKINKVLAVVNEIVNWKNCPVADIPSLEQANKFASKKAIW PDDIDTNEAALKEWKAAGIYRLDKARVSRRISLEFMLEQANKFASKKAIW FPYNMMDWGRVYAVPMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGEEGFYWLKIHGANC AGVDKVPFPERIAFIEKHVDDILACAKDPINNTWWAEQDSPFCFLAFCFEY GVTHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVODIY GIVAQKVNEILQDAINGTPNEMITVTDKDTGEISEKLKLGSTLAQQWLAY GVTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLDITIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAG YMAKLIWDAVSVTVVAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TTPDGFPVWQEYRKPLQKRLDMIFLGQFLQOPTINTLKDSGIDAHKQESGIA PNFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAGKLFKAVRET MVITYENNNDVLADFYSQFADQLHETQDCKMPPLPKGNLNLDILKSDFAFA	6 20
S P 6 RNA ポリメ ラーゼ	MQDLHAIQLQLEEMFNGGIRRRFEADQQQQTIAAGSESDETAWNRLLSELIA MAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLQCVNEVAAYITMKVVMMDMLNTDATL QAIAMSAERIEDQVRFSKLEGHAAKYFEVKVKSLSKASRTKSYRHAHNVAVV AEKSVAEKDADFDWEAWPKETQLQIGTTLLEILEGSVFYNGEPVFMRAMRT YGGKTIYYLQTSSESVGQWISAFKEHVAQLSPAYAPCVIPPRPWTPFNGGFH TEKVASRIRLVKGNRHVRKLTQKQMPKVYKAINALQNTQWQINKDVLAVIE EVIRLDLGYGVPSFKPLIDKENKPNPVPVEFQHRLRGRELKEMLSPEQWQOF INWKGECARLYTAETKRGSKSAAVVRMVQGQARKYSAFEIYFVYAMDSRSRV YVQSSTLSPQSNDLGKALLRFTEGRPVNGEALKWFCINGANLWGWDKTFD VRVSNVLDEEFQDMCRDIAADPLTFTQWAKADAPYEFLAWCFEYAQYLDLVD EGRADEFRTHLPVHQDGSCSGIQHYSAMLRDEVGAKAVNLKPSDAPQDIYGA VAQVVIKKNALYMDADDATTFTSGSVTLSGTTELRAMASAWDSIGITSLTK PVMTLPYGYSTRRLTCRESVIDYIVDLEEKEAQKAVAEGRTANKVHPFEDDRQD YLTGAAAYNYMTALIWPSSIEVVKAPIVAMKMRQLARFAAKRNEGLMYTLP TGFILEQKIMATEMLRVRTCLMGDIKMSLQVETDIVDEAAMMGAAAPNFVHG HDASHLILTVCELVDKGVTSLIAVIHDSFGTHADNTLTLRVALKGQMAMYID GNALQKLLEEHVVRWMVDTGIEVPEQGEFDLNEIMDSEYVFA	7 30

R N A ポリメ ラーゼ	アミノ酸配列	配列 番号
K 1 1 R N A ポリメ ラーゼ	MNALNIGRNDFSEIELAAIPYNILSEHYGDQAAREQLALEHEAYELGRQRFL KMLERQVKAGEFADNAAAKPLVLTLPQLTKRIDDWKEEQANARGKKPRAYY PIKHGVASELAVSMGAEVLKEKRGVSSEAIALLTIKVVLGNAHRLKGHNPA VSSQLGKALEDARFGRIREQEAAFKKNVADQLDKRVGHVYKKAFMQVVEA DMISKGMLGGDNWASWKTDEQMHVGTKLLELLIEGTGLVEMTKNMADGSDD VTSQMVMQQLAPAFVELLSKRAGALAGISPMHQPCVVPPKPWVETVGGGYWSV GRRPLALVRTHSKKALRRYADVHMPEVYKAVNLAQNTPWKVNKKVLAVVNEI VNWKHCPCVGDPVPAIEREELPPRPPDDIDTNEVARAKWRKEAAAVYRKDKARQS RRCRCEFMVAQANKFANHKAIWFPPYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGSLT LAKGKPIGLDGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIKFEENEGNIILASAADPL NNTWWTQQDSPFCFLAFCFEYAGVKHHGLNYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAM LRDSIGGRAVNLLPSTVQDIYKIVADKVNEVLHQHAVNGSQTVVEQIADKE TGEFHFKVTLGESVLAQWLQYGVTRKVTKRSVMTLAGSKESLVRQQVLED TIQPAIDNGEGLMFTHPNQAAGYMAKLIWDAVTVTVAAVEAMNWLKSAAKL LAAEVVKDKKTKEVLRKRCIAIHVTPDGFPPWQEYRKQNQARLKLVFLGQANV KMTYNTGKDSEIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSHLRMTVHANEVYGIDSFAL IHDSSTIPADAGNLFKAVRETMVKTYYEDNDVIADFYDQFADQLHESQLDKM PAVPAKGDLNLRDILESDFAFA	8

10

20

30

40

50

【表2】

表2. RNAポリメラーゼC末端バリエント配列

RNAポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
T 7 R RNAポリメラーゼ C末端バリエント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACILTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	9 9 10 20
T 7 R RNAポリメラーゼ C末端バリエント (追加のG)	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACILTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 0 0 30

R N A ポリマー リメラーゼ	アミノ酸配列	配列 番号
T 3 R N A ポリ メラーゼ C 末端バ リアント	MNIIENIEKNDFSEIELAAIPFNTLADHYGSALAKEQLALEHESYELGERRFLKMLERQAKAGEIADNAAKPLLATLLPKLTTRIVEWLEEYASKKGRKPSAYAPLQLLKPEASAFITLKVLASLTSTNMTTIQAAAGMLGKAIEDEARFGRIRDLEAKHFKKHVEEQLNKRHGQVYKKAFMQVVEADMIGRGLLGGEAWSSWDKETTMHVGIRLIEMLIESTGIVELQRHNAGNAGSDHEALQLAQEYVDVLAKRAGALAGISPMFQPCVVPPKPWVAITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKGLMRYEDVYMPEVYKAVNLQAQNTAWKINKVLAVERNIEVNWKNCVADIPSLERQELPPKPDIDTNEALKEWKAAAGIYRLDKARVSRRISLEFMLEQANKFASKKAIWFPYNMDWRGRVYAVPMFPQGNNDMTKGLLTLAKGKPIGEEGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIAFIEKHVDILACAKDPINNTWWAEOQDSPFCFLAFCFEYAGVTHHGLSYNCSLPLAFDGSCEGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYGIVAQKVNEILKQDAINGTPNEMITVTDKTGEISEKLKLGTSTLAQQWLAYGVTRSVTKRSVMTLAGSKEFGFRQVLDLDTIQPAIDSQKGLMFTQPNQAAGYMAKLIWDAVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTKEILRHRCAVHWTPDGFPVWQEYRKPLQKRLDMIFLGQFRLOQPTINTLKDSDGIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSHLRMTVVYAHKEYGIESFALIHDSFGTIPADAGKLFKAVRETMVITYENNVDVLADFYSQFADQLHETQLDKMPPLPKKGNNLNQDILKSDFAFA X _n (X は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 0 1
T 3 R N A ポリ メラーゼ C 末端バ リアント	MNIIENIEKNDFSEIELAAIPFNTLADHYGSALAKEQLALEHESYELGERRFLKMLERQAKAGEIADNAAKPLLATLLPKLTTRIVEWLEEYASKKGRKPSAYAPLQLLKPEASAFITLKVLASLTSTNMTTIQAAAGMLGKAIEDEARFGRIRDLEAKHFKKHVEEQLNKRHGQVYKKAFMQVVEADMIGRGLLGGEAWSSWDKETTMHVGIRLIEMLIESTGIVELQRHNAGNAGSDHEALQLAQEYVDVLAKRAGALAGISPMFQPCVVPPKPWVAITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKGLMRYEDVYMPEVYKAVNLQAQNTAWKINKVLAVERNIEVNWKNCVADIPSLERQELPPKPDIDTNEALKEWKAAAGIYRLDKARVSRRISLEFMLEQANKFASKKAIWFPYNMDWRGRVYAVPMFPQGNNDMTKGLLTLAKGKPIGEEGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIAFIEKHVDILACAKDPINNTWWAEOQDSPFCFLAFCFEYAGVTHHGLSYNCSLPLAFDGSCEGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYGIVAQKVNEILKQDAINGTPNEMITVTDKTGEISEKLKLGTSTLAQQWLAYGVTRSVTKRSVMTLAGSKEFGFRQVLDLDTIQPAIDSQKGLMFTQPNQAAGYMAKLIWDAVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTKEILRHRCAVHWTPDGFPVWQEYRKPLQKRLDMIFLGQFRLOQPTINTLKDSDGIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSHLRMTVVYAHKEYGIESFALIHDSFGTIPADAGKLFKAVRETMVITYENNVDVLADFYSQFADQLHETQLDKMPPLPKKGNNLNQDILKSDFAFA G	1 0 2
S P 6 R N A ポリ メラーゼ C 末端 バリアン ト	MQDLHAIQLQLEEMFNGGIRRFEADQQRQIAAGSESDTAWNRRLLSELIAPMAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLOCVENEVAAYITMKVVMMDMLNTDATLQAIAMSVAERIEDQVRFSKLEGHAAKYFEKVKKSLSKASRTKSYRHAHNVAVVAEKSVAEKDADPDRWEAWPKLETQQLQIGTTILEILEGSVFYNGEPVFMRAMRTYGGKTIYYLQTSESVGQWISAFKEHVQALSPAYAPCVI PPRPWRTPENGGFHTEKVASRIRLVKGNRHVRKLTQKQMPKVKYKAINALQNTQWQINKDVLAVIEEVIRDLGYYGVESFKPLIDKENKPKANPVPVEFQHLRGRELKEMLSPEQWQFQINWKGECARLYTAETKRGSKSAAVVRMVGQARKYSAFEIYFVYAMDSSRSRVYVQSSTLSPQSNDLGKALLRFTGRPVNGVEALKWCINGANLWGWDKTFDVRVSNVLDEEFQDMCRDIAADPLTFTQWAQADAPYEFIAWCFEYAQYLDLVD EGRADEFRTHLPVHQDGSCSGIQHYSAMLRDEVGAKAVNLKPSDAPQDIYGAVAQVVIKKNALYMDADDATTFTSGSVTLSGTELRAMASAWDSIGITSLTKKPVMTLPYGSTRLTRESVIDYIVDLEEKEAQKAVAEGRTANKVHPFEDDRQDYLTPGAAYNYMTALIWPSISEVVVKAPIVAMKMIQQLARFAAKRNQGLMYTLP TGFILEQKIMATEMLRVRTCLMGDIKMSLQVETDIVDEAAMMGAAAPNFVHGHDASHLILTVCVELDKGVTSTIAVIHDSFGTHADNTLTLRVALKGQMVAMYIDGNALQKLLEEEHEVRWMVDTGIEVPEQGEFDLNEIMDSEYVFAX _n (X は任	1 0 3

10

20

30

40

50

R N A ポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
	意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	
S P 6 R N A ポリメラーゼ C 末端バリアント	MODLHAIOLOLEEMFNGGIRRFEDQQQRQIAAGSESDEAWNRRLLSELIAP MAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLQCVENEVAAYITMKVVMMDMLNTDATL QAIAMSVAERIEDQVRFSKLEGHAAKYFEKVKKSLKASRTKSYSRHANVAVV AEKSVAEKDADFDRWEAWPKETQLQIGTTLLEILEGSVFYNGEPVFMRAMRT YGGKTIYYLQTSESVGQWISAFKEHVAQLSPAYAPCVIPPRPWRTPFNGGFH TEKVASRIRLVKGNRREHVRKLTQKQMPKVKYKAIALQNTOWQINKDVLAVIE EVIRLDLGYGVPSFKPLIDKENKPNPVPVEFQHLRGRELKEMLSPEQWQOF INWKGECARLYTAETKRGSKSAAVVRMVGQARKYSAFEIYFVYAMDSRSRV YVQSSTLSQPSNDLGKALLRFTEGRPVNGVEALKWFCINGANLWGWDKKTDF VRVSNVLDEFQDMCRDIAADPFTQWAKADAPYEFIAFLWCEYAQYLDLVD EGRADEFRTHLPVHQDGSCSGIQHYSAMLRDEVGAKAVNLKPSDAPQDIYGA VAQVVIKKNALYMDADDATTFTSGSVTLSGTTELRAMASAWDSIGITRSLTKK PVMTLPYGSTRLTCRESVIDYIVDLEEKEAQAQKAVAEGRTANKVHPFEDDRQD YLTPGAAYNYMTALIWPSEVVVKAPIVAMKMIQQLARFAAKRNGLMYTLP TGFILEQKIMATEMLRVRTCLMGDIKMSLQVETDIVDEAMMGAAPNFVHG HDASHLILTVCELVDKGVTSAVIHDSFGTHADNTLRLVALKGQMAMYID GNALQKLLEEHEVRWMVDTGIEVPEQGEFDLNEIMDSEYVFAG	10 4
K 1 1 R N A ポリメラーゼ C 末端バリアント	MNALNIGRNDNSEIELAAIPYNILSEHYGDQAAAREQLALEHEAYELGRQRFL KMLERQVKAGEFADNAAKPLVLTLPQLTKRIDDWKEEQANARGKKPRAYY PIKHGVASELAWSMGAEVLKEKRGVSSEAIALLTIKVVLGNAHRPLKGHNPA VSSQLGKALEDEARFGRIREQEAAAYFKKNVADQLDKRKGHVYKKAFMQVVEA DMI SKGMLGGDNWASWKTDEQMVGTKLLELLIEGTGLVEMTKNMADGSDD VTSQMQLAPAFVELLSKRAGALAGISPMHQPCVPPKPWETVGGGYWSV GRRPLALVRTHSKKALRRYADVHMPEVYKAVNLAQNTPWKVNKKVLAVVNEI VNWKHCVPGVPAIEREELPPRPPDDIDTNEVARAKWRKEAAVYRKDKARQS RRCRCEFMVAQANKFANHKAIWFYPNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGSLT LAKGKPIGLDGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIKFIEENEGNTLASAADPL NNTWWTQQDSPFCFLAFCFEYAGVHHGLNYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAM LRDSIGGRAVNLLPSDTVQDIYKIVADKVNEVLHQHAVNGSQTVVEQIADKE TGEFHCKVTLGESVLAQWLQYGVTRKVTKRSVMTLAYGSKESLVRQQVLED TIQPAIDNGEGLMFTHPNQAAQYMAKLIWDAVTVTVVAEAMNWLKSAKL LAAEVKDKKTKEVLRKRCAIHWVTPDFPVWQEYRKQNQARLKLVFLGQANV KMTYNTGKDSEIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSHLRMTVVHANEVYGIDSFAL IHDSGGTIPADAGNLFKAVRETMVKTYEDNDVIADFYDQFADQLHESQLDKM PAVPAKGDLNLRDILESDFAFAX _n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	10 5
K 1 1 R N A ポリメラーゼ C 末端バリアント	MNALNIGRNDNSEIELAAIPYNILSEHYGDQAAAREQLALEHEAYELGRQRFL KMLERQVKAGEFADNAAKPLVLTLPQLTKRIDDWKEEQANARGKKPRAYY PIKHGVASELAWSMGAEVLKEKRGVSSEAIALLTIKVVLGNAHRPLKGHNPA VSSQLGKALEDEARFGRIREQEAAAYFKKNVADQLDKRKGHVYKKAFMQVVEA DMI SKGMLGGDNWASWKTDEQMVGTKLLELLIEGTGLVEMTKNMADGSDD VTSQMQLAPAFVELLSKRAGALAGISPMHQPCVPPKPWETVGGGYWSV	10 6

10

20

30

40

50

RNAポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
	GRRPLALVRTHSKKALRRYADVHMPEVYKAVNLAQNTPWVNKKVLAVVNEIVNWKHCPVGDVPAIEREELPPRPPDDIDTNEVARKEAAAVYRKDKARQSRRCRCEFMVAQANKFANHKAIWFPYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGSLTLAKGKPIGLDGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIKFIEENEGNI LASAADPLNNTWWTQQDSPFCFLAFCFEYAGVKHHGLNYNCSPLAGSKEISLVRQQVLEDLRDSIGGRAVNLPSDTVQDIYKIVADKVNEVLHQHAVNGSQTVEQIADKETGEFHEKVTLGESVLAAQWLQYGVTRKVTKRSVMTLAYGSKESLVRQQVLEDTIQPAIDNNGEGLMFTHPNQAAGYMAKLIWDAVTVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTKEVLRKRCAIHWVTPDGFPPWQEYRKQNQARLKLVFLGQANVKMTYNTGKSEIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSHLRMTVHANEVYGIDSFALIHDSGGTIPADAGNLFKAVRETMVKYEDNDVIADFYDQFADQLHESQLDKMPAVPAKGDLNLRDILESDFAFAG	10

【実施例】**【0334】**

実施例1. バリアントT7 RNAポリメラーゼの生成

20

Cヘリックス及びCリンカーT7 RNAポリメラーゼバリアントを、表3及び表4に示される置換を用いて生成した。

30

40

50

【表3】

表3. T7 RNAポリメラーゼバリアント

T7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
S 4 3 A	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAAYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWOEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESOLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFA	2
G 4 7 A	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAAYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWOEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESOLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFA	3

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
R 2 5 7 A	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESSTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT <u>AAGA</u> LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNDMDWRGRVYAVSMFNPGQNDMTKGLLITLAKGKPIGKEGYYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHLGSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGCWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTTRNLMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVIALDFYDQFADQHESOLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFA	4
G 2 5 9 A	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESSTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT <u>AAA</u> LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNDMDWRGRVYAVSMFNPGQNDMTKGLLITLAKGKPIGKEGYYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHLGSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGCWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTTRNLMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVIALDFYDQFADQHESOLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFA	5
E 4 2 A	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHASYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESSTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPIAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	9

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	
E 4 2 I	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H I S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K	1 0

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
E 42 L	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H L S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T	20
		30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGE I SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKG LMFT QPNQAAGY MAKLIWESVS VTVAAVEAMNWLKS A AKLLAAEVKDKKTGE I LRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSE IDAHKQESG IAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKG NNL RDILESDFAFA	10
E 42 M	MNTINI AKNDFSDI ELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELA P EYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPL ENTWWAEQDSPFCFL AFC F EYAG VQHHGLSYNC SLPLA FDGSCSGI QHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGE I SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKG LMFT QPNQAAGY MAKLIWESVS VTVAAVEAMNWLKS A	12 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
E 42 K	MNTINI AKND FSDI ELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHKSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCI EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHC PVEDIPAIEEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPL ENTW WAEQDSPFCFL AFCFEYAG VQHHGLSYNC S LPLAFDGSCSGIQHF SAM LRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LED TI QPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES	13 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRE TM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFA	
E 4 2 Q	MNTINI AKND FSDI ELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHQSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCF EYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRE TM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFA	14 10 20 30
S 4 3 I	MNTINI AKND FSDI ELAAIPFNTLAD	15 40

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	HYGERLAREQLALEHEIYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMELIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESC DVLA DFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	
S 4 3 L	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHELYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD	16

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEMELIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIA TRAGALAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWFPYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFI EENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKV VKLGT LAGQWLAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQ QVLEDTIQPA IDSGKGLMFT QPNQAAGY MAKLI IWESVS VTVV AAVEAM NWLKSA AKLL AAEV VKDKKT GEILRKRC AVHWV TPDGFPV WQEYKK PIQTRL NLMFLGQ FRLQPT INTNK DSEIDA AHKQ ESGIAP NFVHSQDG SHLRKT VVAHE KYGIES FALIHDS FGTIP ADAANLF KAVRE TM VDTYESCD VLADFYD QFADQL HESQL DKMPALPA KGNLN LRD I LES DFA FA	
S 4 3 M	MNTINIAKND FSDIEL AAIPF NTLAD HYGERL AREQL ALEHE MYEMGE ARFR KMF ERQL KAGE EVAD NAA AKPL ITT LL PKM IAR IND WFEE VKA KRG KRPT TAFQ FLQE IKPE AVAY ITI KT TLAC LTSAD NTTVQ AVASA IGRA IEDE ARF GRIRD LEAK HF KKN VEE QLN KRV GHV YKKA MQV VVE ADML SKG LLG GEAWS WHKED SIH VGVR CIE MEL IEST GMV SLHR QNA	17

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MF QPC VVPPK PWTG I TGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RD ILESDF AFA	10
S 4 3 K	MNTINIAKND FSDIELAAI P FNT LAD HYGERLAREQLALEHEKYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KG L LGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MF QPC VVPPK PWTG I TGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA	18 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDCKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF	10
S 4 3 Q	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHEQYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG	19 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LLT LAKGKPI GKE GYY WLKI HG ANCA GVD KVP F PERIKF IEE NHEN IMAC AK S PLE NTWWAEQD S PFCFL AFC F EYAG VQHHGL SYNC SLPL AFDG SCS G I QHF SAML RDE VGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKL GTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LED TI QPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKL IWE SVS VTVAAVEAMNWLKSA AKL LAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKA VRET M VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKG NLRD ILESDFAF A	10
S 43 E	MNTINIAKND FSDIE LA AIP FNT LAD HYGERLARE QLA LEHE EYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADM LSKG LLGG EAWS SWHKED SIHVGVRCI EMLIE STGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMR YEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDI PAI EREEL PMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKPI GKE GYY WLKI HG ANCA GVD KVP F PERIKF IEE NHEN IMAC AK S PLE NTWWAEQD S PFCFL AFC F EYAG VQHHGL SYNC SLPL AFDG SCS G I QHF	20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
Y 4 4 A	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S A E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V	21 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LEDTIQPAIDSGKGKLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
Y44I	MNTINI AKND FSD IELAAI P FNTLAD HYGERLARE QLA LEHESI EMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNV EQLN KRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED S IHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKV LAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKP I GKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGKLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ	22 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	
Y 4 4 L	MNTINI AKND FSD IELAAI P FNTLAD HYGERLARE QLA LEHESLEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARI NDWFEEV KAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED S IHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVA NVITKWKHC PVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKG LLT LAKGKPI GKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLP LAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LED TI QPAIDSGKG LMFT QPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNWLKSA AKL LAAEVVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKP IQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	10 23 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNL RDILESDF AFA	
Y 4 4 M	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKM IARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKG L LGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEML IESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIE LAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPC VVPPKPWTG ITGGGY WANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVA NVITKWKHCPVEDIPAIE REELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKG LMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKL LAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDF AFA	24
Y 4 4 K	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESKEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL	25

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	PKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVS LHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MP EVYKA INIAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHCPVEDI PAI EREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFI EENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQKV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	
Y 44 Q	MNTINI AKND FSDIE LAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESQEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF	26

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED S IHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAAITRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWL AYGVTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VVAAVEAMNW LKS AKLLAAEV VKDKKTGE ILRKRC AVHWV TPDGFPV WQEYKK P I QTR LNLMF LGQ FRLQPT INTNK DSE IDA HKQ ESG IAP NFVHSQDG SHLRK TVWAHE KYGI ES FAL IHDSFGT IPADA ANLF KAVRE TM VDTYESCDV LADF YDQF ADQL HESQL DKMPALPA KGNL NLRD ILE SDFA FA	10
Y 44 E	MNTINI AKNDFSD IELAAIP FNTLAD HYGERL AREQL ALEHE SEEMGE ARFR KMF ERQL KAGE VAD NAA AKPL IT TLL PKMI ARI NDWF EEV KAKRG KRPTAFQ FLQE IKPE AVAY IT IKTT LAC LT SAD NTTV QAV ASA IGRA IE DEAR FGR IRD LEAK HFK KNV EEQ LNK RVGH VYK KAF MQVVEADML SKGL LGGE AWS WHKED S IHGVRCI EMLIE STGMVSL HRQNA GVVGQDSET IELAPEY AEAA ITRAGA LAGISPMF QPCVV PPKP WTGIT GGGY	27 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDCKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFGLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYECDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF	10
E 45 A	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYAMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	28 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDCKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
E 45 I	MNTINI AKND FSDIE LAAI P FNTLAD HYGERLARE QLA LEHE SYIMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	29 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
E 4 5 L	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y L M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T	30
		50

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
E 45 M	MNTINI AKND FSDI ELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYMMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHPVEDI PAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPL ENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGI QHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VT VVAAVEAMNWLKSA	31 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AK L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
E 4 5 K	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y K M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S	32 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
E 4 5 Q	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYQMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KG L LGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEML IESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIE LAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPC VVPPKPWTG I TGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFL AFCF EYAG VQHHGLSYNC S LPLA FDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNW LKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	3 3
M 4 6 A	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD	3 4

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	HYGERLAREQLALEHESYEAGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANC GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGI FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRE VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	
M 4 6 I	MNTINI AKNDFSDIELAAI PPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEIGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD	35

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNLKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCCIEMLIESSTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIA TRAGA LAGISPMLQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWFP PYNNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANC GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMF TQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNNLRDILES DFAFA	
M 4 6 L	MNTINI AKNDFSDIELAAIIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKP EAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNLKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCCIEMLIESSTGMVSLHRQNA	36

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MF QPC VVPPK PWTG ITGGGY WANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVA NVITKWKHCPVEDIPAIER EELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWE SVS VTVVA AVEAMNW LKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	10
M46K	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEKGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MF QPC VVPPK PWTG ITGGGY WANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVA	38 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPPFPERIKFIEENHENIMACAK SPL ENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFA	10
M 4 6 Q	MNTINIAKND FSDIELAAI P FNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEQGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG	39 50 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LLT LAKGKPI GKE GYY WLKI HG ANCA GVD KVP F PERIKF IEE NHEN IMAC AK S PLE NTWWAEQD S PFC FL AFC FE YAG VQHHGL SYNC SLPL AFD GS CSG I QHF SAML RDE VGGRAVNLLP SETV QDI YG IVAK KVNE I LQADA IN GTD NEV VT V T DENT GE I SEKV KLGT KAL AGQW LAY G VTR SVTK RSV MTL AY GSKE FG FR QQV LED TI QPA ID SGK GLMFT QPN QAA GY MAKL IWE S VS VTV VAA VEAM NWL KSA AKLL AAEV KD KKT GE I LRK RC AVHW V TPDG FP V WQ EY KKP I QTR LN LMFL GQ FRL QPT INT NKD SE I DAHK QES G I AP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIH DSFGTI PADAANLFKA VR ETM VDTYE SCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKG N LNR DILE SDF AFA	10
M 46 E	MNT I NIAK NDF SDI E LAA I P F NTL AD HYGER LARE QL ALE HES YEE GEAR FR KMFER QLKAGE VADNAAKPL I TT LL PKMIAR I NDWF EEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADM LSKG L LGGE AWSS WHKED SIHVGVRCI EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTG I TGGGY WANGRRPLALVRTHSKK ALMR YEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKV LAVA NVITKWKHC PV EDI PAI E REEL PMK P EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKPI GKE GYY WLKI HG ANCA GVD KVP F PERIKF IEE NHEN IMAC AK S PLE NTWWAEQD S PFC FL AFC FE YAG VQHHGL SYNC SLPL AFD GS CSG I QHF	40 30 40

10

20

30

50

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N R D I L E S D F A F A	10
G 4 7 I	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M I E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V	41 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LED T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	
G 4 7 L	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M L E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q	4 2 10 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	
G 4 7 M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVNEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMLSKGLLGGEAWSSWHKED WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHC PVEDIPAIEEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRYYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWEVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	43 20 30 40

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNL RD ILESDF AFA	
G 47 K	MNTINIAKND FSDIE LAAIPF NTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMKEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKM IARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KG L LGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISP MFQPC VVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHC PVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFI EENHENIMACAK SPL ENTWWAEQDSPFCFLAFCF EYAG VQHHGLSYNC SLP LAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKG LMFT QPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKP IQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RD ILESDF AFA	44
G 47 Q	MNTINIAKND FSDIE LAAIPF NTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMQEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL	45

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNLKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MP EVYKA INIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDS GKG LMF TQP NQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNW LKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHD SFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAA	
G 4 7 E	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMEEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNLKRVGHVYKKAF	46

10

20

30

40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLSKGLLGGEAWSLWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	10
A 2 5 5 I	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSLWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIITIAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY	30 5

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PY NMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWEVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMF LGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
A255K	MNTINI AKND FSDIE LAAI P FNTLAD HYGERLARE QLA LEHE SYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEA IKT IAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	31 6 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWEVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
A 2 5 5 Q	MNTINI AKND FSDIE LA AIP FNTLAD HYGERLAREQLALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIQTIAGA LAGISP MFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	31 7 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
A 2 5 5 Y	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I Y T I A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T	31 8 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGEISEKVKLGLTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMLFGLQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
R 257 I	MNTINI AKND FSDIELAAI P FNTLAD HYGERLARE QLA LEHE SYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED S IHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATIAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKV LAVA NVITKWKHC PVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGI QHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGLTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA	47 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AK L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
R 2 5 7 L	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T L A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S	48 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
R 257M	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCI EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATMAGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPAIEEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFT QPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	49
R 257K	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD	50

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIAATKAGA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWFP PYNMMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANCAG VDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKS PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYGV VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFHQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF	
R 257Q	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD	51

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNLKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCCIEMLIESSTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATQAGA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKLMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKPE DIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANC GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSAGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLDILESDFAFA	
R 257 E	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARIINDWFEDEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNLKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCCIEMLIESSTGMVSLHRQNA	52

10

20

30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	GVVGQDSETIELAPEYAEAIATEAGA LAGISP MF QPCVVPPK PWTG I TGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNM DWGRGRVYAVSMFNPQGN DMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFF PERIKFIEENHENIMACAK SPL ENTWWAEQDSPFCFL AFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGI QHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWE SSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
A 2 5 8 I	MNTINIAKND FSDI ELAAI P FNTLAD HYGERLAREQLA LEHE SYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNA AAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYK KAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRIGA LAGISP MF QPCVVPPK PWTG I TGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKKVLAVA	53 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PY NMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWEVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	10
A 2 5 8 L	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNV EEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADM LSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIE LAPEYAEAIATRLGA LAGISP MFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PY NMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG	54 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LLT LAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGI FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRE VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	10
A 2 5 8 M	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARI NDWFE EVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRMGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKV LAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF	55 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
A 2 5 8 K	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R K G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V	56 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LED T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
A 2 5 8 Q	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R Q G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q	57 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF	10
A 2 5 8 E	MNTINI AKND FSD IELAAI P FNT LAD HYGERLARE QLA LEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED S IHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATREGA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC S LPLA FDGS CSGI QHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	58 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	
G 2 5 9 I	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAIA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQ LEDTIQPAIDSGKG LMFT QPNQAAGY MAKLIWE S VSVTVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRET VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	5 9 10 20 30
G 2 5 9 L	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLL	6 0 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAMA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDCKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
G 2 5 9 K	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAKA LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY	62 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTALKAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFQG FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGI FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
G 259Q	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCI EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETI ELAPEYAEAIATRAQA LAGISP MFQPCVVPPKPWTG ITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	63 30 40

10

20

30

50

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGI QHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA VAAVEAMNWLSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
G 2 5 9 E	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAEA LAGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	64 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
A 2 6 O I	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G I L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T	20
		30

40

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGKLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLDI L E S D F A F A	10
A 2 6 0 L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED S I HVGVR C I EML IESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGL LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFI EENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGI QHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGKLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA	66 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYECDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	10
A 2 6 0 M	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C I EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGM LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMR YEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKKV LAVA NVITKWKHC PVEDIPAIEEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGPI GKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNW LKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES	67 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A 2 6 0 K	MNTINIAKND FSDI ELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHE SYEMGEARFR KMFERQLKAGEEVADNAAAKPLITLL PKMIARINDWFE EVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KG L LGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGK LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNDWRGRVYAVSMFNPQGNNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWE S VSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	6 8
A 2 6 0 Q	MNTINIAKND FSDI ELAAIPFNTLAD	6 9

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARIINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGQ LAGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIQAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMMDWRGRVYAVSMFPQGNNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANC GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESC DVLA DFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNRDILESDFAFA	
A 2 6 0 E	MNTINI AKNDFSDIELAAI P FNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARIINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD	70

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESSTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGE LAGISP MF QPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINI AQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC S LPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNW LKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKG N LRD ILES D FAFA	10 20 30
L 2 6 1 A	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKP EAVAYITIKTTLAC LTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESSTGMVSLHRQNA	71

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA AAGISPMFQPCVVPKKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMF LGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
L 2 6 1 I	MNTINIAKNDFS DIELAAI P F N T L A D HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA IAGISPMFQPCVVPKKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA	72 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLT LAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFP PERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMLFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
L 2 6 1 M	MNTINI AKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA MAGISPMFQPCVVPPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA NVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG	73 30 40

10

20

30

50

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N R D I L E S D F A F A	10
L 2 6 1 Q	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A Q A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V	75 20 30 40

10

20

30

50

50

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LED T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
L 2 6 1 E	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A E A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q	76 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	
A 2 6 2 I	MNTINI AKND FSDI ELAA IPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED S IHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LIGISP MFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKA INIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PY NMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKE GYYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLP LAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKG LMFT QPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	10 77 20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
A 2 6 2 L	DKMPALPAKGNLNL RD ILES D F A F A MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNV EQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS S WHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LLGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKA VRET M VDTYESCDVLA DFYDQFADQLHE SQL DKMPALPAKGNLNL RD ILES D F A F A	7 8
A 2 6 2 M	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL	7 9

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L M G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A 10	
A 2 6 2 K	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F 20	
		30
		8 0

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED S IHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LKGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITWKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLIKHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK S PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVT DENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
A 2 6 2 Q	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARI NDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED S IHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LQGISPBMFQPCVVPPKPWTGITGGGY	20 30 81 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMF LGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	10
A 2 6 2 E	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LEGISPQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	20 30 40

T 7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	10
S 4 3 R	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q I A L E H E R Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S I H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A I V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L I A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	20 8 3 30

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
E 4 5 R	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYRMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKYKKPQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDIILESDFAFA	8 4
G 4 7 R	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMREARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKYKKPQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDIILESDFAFA	8 5
R 2 5 7 W	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKYKKPQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDIILESDFAFA	8 6

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
G 2 5 9 R	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVYKKAFMNVVQEAADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGR LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPILALVRTHSKALMRYEDVV MPEVYKAINIAQONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	8 7
A 2 6 0 R	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVYKKAFMNVVQEAADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGR LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPILALVRTHSKALMRYEDVV MPEVYKAINIAQONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	8 8
N 1 6 5 W	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVYKKAFMNVVQEAADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGR LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPILALVRTHSKALMRYEDVV MPEVYKAINIAQONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	8 9

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
E 1 6 7 M	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVNEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGTTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	9 0
E 1 6 7 N	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVNEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGTTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	9 1
E 1 6 8 I	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVNEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGTTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	9 2

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
E 1 6 8 T	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVE <u>T</u> OLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMIELIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMPFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAKSPLENTWWEAQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFA	9 3
E 1 6 8 V	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVE <u>V</u> OLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMIELIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMPFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAKSPLENTWWEAQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFA	9 4
A 1 8 1 F	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVE <u>V</u> OLNKRVGHVYKKFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMIELIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMPFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIENHENIMACAKSPLENTWWEAQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFA	9 5

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
A 1 8 1 W	MNTINIAKNDFS DIE LAAI P FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKWFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEM LIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFN PQGNDMTKG LTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWEAQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTL AYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKG LMFTQP NQAA MAKLIWE S VSVTVA VAEAMNLKSAAKL LAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGF PVWQ EYKKP I QTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRE VDTYESCDV LADFYDQFADOLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFA FA	9 6
Q 1 8 4 M	MNTINIAKNDFS DIE LAAI P FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFM VVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEM LIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFN PQGNDMTKG LTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWEAQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTL AYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKG LMFTQP NQAA MAKLIWE S VSVTVA VAEAMNLKSAAKL LAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGF PVWQ EYKKP I QTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRE V VDTYESCDV LADFYDQFADOLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFA FA	9 7
E 1 8 7 F	MNTINIAKNDFS DIE LAAI P FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFM VVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEM LIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFN PQGNDMTKG LTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWEAQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTL AYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKG LMFTQP NQAA MAKLIWE S VSVTVA VAEAMNLKSAAKL LAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGF PVWQ EYKKP I QTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRE V VDTYESCDV LADFYDQFADOLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFA FA	9 8

10

20

30

40

50

【表4】

表4. T7 RNAポリメラーゼC末端バリアント

T7 RN Aポリメラ ーゼC末端 バリアント	アミノ酸配列	配列 番号
S 4 3 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACILTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCAG GVDKVPPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKVLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTQLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG <p>■ (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	10 7
S 4 3 A C末端バリ アント (S 4 3 A C 末端Gバリ アントまたは S 4 3 A *)	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACILTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCAG GVDKVPPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKVLGTAKLAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTQLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	10 8

10

20

30

40

50

G 4 7 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEM A EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQQVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 0 9
G 4 7 A C 末端バリ アント (G 4 7 A C 末端Gバ リアントま たは G 4 7 A *)	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEM A EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQQVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 1 0
R 2 5 7 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQQVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT A AGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 1 1

10

20

30

40

50

R 257 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT ⁿ AGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 1 2
G 259 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT ⁿ AA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 1 3
G 259 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT ⁿ AA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 1 4

10

20

30

40

50

E 42 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHASYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRGVHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFPQGNMDTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 1 5
E 42 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHASYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRGVHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFPQGNMDTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 1 6
E 42 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHASYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRGVHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFPQGNMDTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 1 7

10

20

30

40

50

E 42 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHISYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMFQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMPFQPCVVPKFWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGOWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTOPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 1 8
E 42 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHISYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMFQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMPFQPCVVPKFWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGOWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTOPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 1 9
E 42 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHISYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMFQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMPFQPCVVPKFWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGOWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTOPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 2 0

10

20

30

40

50

E 4 2 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFCMVQVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYKPIQTRLNLMFLGQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHIRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX ▪ (*は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 2 1
E 4 2 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFCMVQVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYKPIQTRLNLMFLGQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHIRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 2 2
E 4 2 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFCMVQVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDIPAIEREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYKPIQTRLNLMFLGQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHIRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG ▪ (*は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 2 3

10

20

30

40

50

E 4 2 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHQSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADOLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 2 4	10
E 4 2 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHQSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADOLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 2 5	20
E 4 2 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHQSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADOLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 2 6	30

S 4 3 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHEIYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEOLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGVDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 2 7
S 4 3 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHEIYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEOLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGVDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAG	1 2 8
S 4 3 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHELYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEOLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGVDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAG n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 2 9

10

20

30

40

50

S 4 3 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEMYEMGEARFR KMFERQLKAGEVA DNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTA FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQV VEADMLSKGLLG GEAWSSWHKED SIHGVRCIEM LIES TGMVSLHR QNAGVV GQDSET IELAPEY AEAIATRAGA LAGISPMFQPC CVVPP PKW GITGGGY WANGRR PLAL VRTH SKK ALMRY EDVY MPEVY KAINIA QNT AWK INK KVL AVAN VIT KW HCP VEDI PAI EREEL PMK EDIDMN PEALT AWK RAA AVY RK DK KAR SRR ISLE FM Q E ANK F H KAI WF PYNMDW RGR VYAV SMF N P Q G N DM TK GL L T LA KG P IG KE YY WL KI H GAN CA GVD KVP PER IF IE EN HEN IM ACA KS PLE NT WW AE QD SP FC FL AF CF EY AG VQHH GLS YNC CSL PLA FDG SC SGI QH FS AM LR DEV G GRA VN LL P SET V QD I Y IV AK KV NEI L Q ADA ING TD NE VV T D ENT GE I SE K V KL GT KA LAG QW LAY G V TR SV TK RS V M T LA Y GS KE FG FR QQ V LED T I Q PA ID SG K GL MF T QP N QA AG Y MA KL I WE S VS V V AA VE AM NL K SA A K L L AA EV V D K KT GE I L R K R CA V HW TP DG FP W Q EY KK P I Q TR LN LM FL G F R L Q P T I N K D S E I DA H K Q E S G I A P NF VHS QDG SH LR K TV V V A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A K G N L N L R D I L E S D F A F A G n (* は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 3 0
S 4 3 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEMYEMGEARFR KMFERQLKAGEVA DNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTA FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQV VEADMLSKGLLG GEAWSSWHKED SIHGVRCIEM LIES TGMVSLHR QNAGVV GQDSET IELAPEY AEAIATRAGA LAGISPMFQPC CVVPP PKW GITGGGY WANGRR PLAL VRTH SKK ALMRY EDVY MPEVY KAINIA QNT AWK INK KVL AVAN VIT KW HCP VEDI PAI EREEL PMK EDIDMN PEALT AWK RAA AVY RK DK KAR SRR ISLE FM Q E ANK F H KAI WF PYNMDW RGR VYAV SMF N P Q G N DM TK GL L T LA KG P IG KE YY WL KI H GAN CA GVD KVP PER IF IE EN HEN IM ACA KS PLE NT WW AE QD SP FC FL AF CF EY AG VQHH GLS YNC CSL PLA FDG SC SGI QH FS AM LR DEV G GRA VN LL P SET V QD I Y IV AK KV NEI L Q ADA ING TD NE VV T D ENT GE I SE K V KL GT KA LAG QW LAY G V TR SV TK RS V M T LA Y GS KE FG FR QQ V LED T I Q PA ID SG K GL MF T QP N QA AG Y MA KL I WE S VS V V AA VE AM NL K SA A K L L AA EV V D K KT GE I L R K R CA V HW TP DG FP W Q EY KK P I Q TR LN LM FL G F R L Q P T I N K D S E I DA H K Q E S G I A P NF VHS QDG SH LR K TV V V A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A K G N L N L R D I L E S D F A F A G n (* は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 3 1
S 4 3 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEMYEMGEARFR KMFERQLKAGEVA DNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTA FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQV VEADMLSKGLLG GEAWSSWHKED SIHGVRCIEM LIES TGMVSLHR QNAGVV GQDSET IELAPEY AEAIATRAGA LAGISPMFQPC CVVPP PKW GITGGGY WANGRR PLAL VRTH SKK ALMRY EDVY MPEVY KAINIA QNT AWK INK KVL AVAN VIT KW HCP VEDI PAI EREEL PMK EDIDMN PEALT AWK RAA AVY RK DK KAR SRR ISLE FM Q E ANK F H KAI WF PYNMDW RGR VYAV SMF N P Q G N DM TK GL L T LA KG P IG KE YY WL KI H GAN CA GVD KVP PER IF IE EN HEN IM ACA KS PLE NT WW AE QD SP FC FL AF CF EY AG VQHH GLS YNC CSL PLA FDG SC SGI QH FS AM LR DEV G GRA VN LL P SET V QD I Y IV AK KV NEI L Q ADA ING TD NE VV T D ENT GE I SE K V KL GT KA LAG QW LAY G V TR SV TK RS V M T LA Y GS KE FG FR QQ V LED T I Q PA ID SG K GL MF T QP N QA AG Y MA KL I WE S VS V V AA VE AM NL K SA A K L L AA EV V D K KT GE I L R K R CA V HW TP DG FP W Q EY KK P I Q TR LN LM FL G F R L Q P T I N K D S E I DA H K Q E S G I A P NF VHS QDG SH LR K TV V V A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A K G N L N L R D I L E S D F A F A G n (* は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 3 2

10

20

30

40

50

S 4 3 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEKYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLA D FYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 3 3
S 4 3 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEKYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLA D FYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 3 4
S 4 3 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEQYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLA D FYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 3 5

10

20

30

40

50

S 4 3 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEQYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWILAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG ▪ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 3 6	10
S 4 3 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEEYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWILAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX	1 3 7	20
S 4 3 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEEYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWILAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVERTM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 3 8	30

Y 4 4 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESAEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 3 9
Y 4 4 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESAEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 4 0
Y 4 4 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 4 1

10

20

30

40

50

Y 4 4 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	1 4 2
Y 4 4 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 4 3
Y 4 4 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	1 4 4

10

20

30

40

50

Y 4 4 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLTLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMNVVADMLSCKGLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 4 5
Y 4 4 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLTLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMNVVADMLSCKGLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	1 4 6
Y 4 4 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLTLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMNVVADMLSCKGLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 4 7

10

20

30

40

50

Y 4 4 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LAAPFNTLADHYGERLAREQ LALEHESKEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIELM IESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELA PEA EAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPK PWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEAL TAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFM QANKFANHKAIWF PYNM DWGRVYAVSMFN PQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLP AFLDGCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQO VLED TIQPAIDSGKGLMFTQP NQAAGY MAKLIWESVSVTVA AVEAMNW LKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQYEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 4 8
Y 4 4 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LAAPFNTLADHYGERLAREQ LALEHESQEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIELM IESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELA PEA EAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPK PWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEAL TAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFM QANKFANHKAIWF PYNM DWGRVYAVSMFN PQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLP AFLDGCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQO VLED TIQPAIDSGKGLMFTQP NQAAGY MAKLIWESVSVTVA AVEAMNW LKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQYEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 4 9
Y 4 4 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LAAPFNTLADHYGERLAREQ LALEHESQEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIELM IESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELA PEA EAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPK PWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKV LAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREEELPMKP EDIDMNPEAL TAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFM QANKFANHKAIWF PYNM DWGRVYAVSMFN PQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLP AFLDGCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDT DENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQO VLED TIQPAIDSGKGLMFTQP NQAAGY MAKLIWESVSVTVA AVEAMNW LKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQYEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 5 0

10

20

30

40

50

Y 4 4 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESEEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMNVGQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRGNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 5 1
Y 4 4 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESEEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMNVGQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRGNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAG	1 5 2
E 4 5 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESEYAMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMNVGQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRGNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 5 3

10

20

30

40

50

E 45 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYAMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFCMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 5 4
E 45 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYIMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFCMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 5 5
E 45 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYIMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFCMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 5 6

10

20

30

40

50

E 45 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYLMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 5 7	10
E 45 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYLMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 5 8	20
E 45 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYMMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 5 9	30

E 4 5 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYMMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVKKAFCMVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGVDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAAYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	1 6 0
E 4 5 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYKMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVKKAFCMVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGVDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAAYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAX ▪ (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 6 1
E 4 5 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYKMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVKKAFCMVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGVDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAAYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	1 6 2

10

20

30

40

50

E 4 5 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYQMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEGDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ▪ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 6 3
E 4 5 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYQMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEGDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 6 4
M 4 6 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEAGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEGDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ▪ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 6 5

10

20

30

40

50

M 4 6 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDELAAPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEAGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEVAKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPALARVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 6 6
M 4 6 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDELAAPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEIGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEVAKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPALARVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG ¤ (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 6 7
M 4 6 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDELAAPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEIGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEVAKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPALARVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIEEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 6 8

10

20

30

40

50

M 4 6 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 6 9
M 4 6 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAG	1 7 0
M 4 6 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEKGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 7 3

10

20

30

40

50

M 4 6 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEKGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMELIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIOPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 7 4
M 4 6 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEQGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMELIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIOPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 7 5
M 4 6 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEQGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMELIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIOPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 7 6

10

20

30

40

50

M 4 6 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEEGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLREVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 7 7	10
M 4 6 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMI EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLREVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 7 8	20
G 4 7 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMI EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLREVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 7 9	30

G 47 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMIEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSLWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNWLSAAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPIQTRNLMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFA利HDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 8 0
G 47 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMLEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSLWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNWLSAAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPIQTRNLMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFA利HDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX	1 8 1
G 47 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMLEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSLWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNWLSAAKLLAAEVKDCKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPIQTRNLMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFA利HDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 8 2
G 47 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMLEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD	1 8 3

10

20

30

40

50

	LEAKHFKKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYEYKKPQTRLNLMFLQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	
G 47 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAHESYEMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYEYKKPQTRLNLMFLQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 8 4
G 47 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAHESYEMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYEYKKPQTRLNLMFLQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 8 5
G 47 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAHESYEMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAEEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYEYKKPQTRLNLMFLQFRLOQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 8 6

10

20

30

40

50

	GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEVKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	
G 4 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFTLADHYGERLAREQLALEHESYEMQEARFR KMFERQLKAGEEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAHRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMNVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA VANVITKWKHCPVEDI PAI EERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGQNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEVKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 8 7
G 4 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFTLADHYGERLAREQLALEHESYEMQEARFR KMFERQLKAGEEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAHRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMNVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLA VANVITKWKHCPVEDI PAI EERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGQNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEVKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	1 8 8

10

20

30

40

50

G 4 7 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMEEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQVVEADMLS KG LLGG EA WSSWHKED SIHGVRCI EM LI EST GMV SLHR QNAG VG QD SET I ELA PE YAE AIA TRAGA LAG IS SPMF QPC V PP KP WT GIT GG GY WA NG RR PL AL VR THS KK AL MRY EDV MPE VY KAIN IA QNT AW KINK VL AV AN VIT KW KH CP VED I PA I ER EL PM K P ED ID MN PE AL TAW KRA AA AV YR KD KAR SRR IS LE FM LE QANK FAN HK IWF PY NMD DW RGR V AV SMF N PQ GND MT KG LL LA KG KPI G KE GY WL KI HG AN CA GV DK VP F PER I K F IE EN HE NI MA CA KS PL ENT WW AE QD SP FC FL AF C FE Y AG V QH HGL SY NC SL PL AF DG CS GI QH FS AM LR DEV GG RA VN LL P SET V QD I Y G IV AK KV NE IL Q ADA I NG T D NE VV T D ENT GE I SE K V KL GT KA LG QW LA Y G V TR SV T K R S V ML T LA Y GS K EF G F R QQ V LED T I Q PA I D SG K GL MF T Q P N Q A AG Y MA K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V TP D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A X	1 8 9	10
G 4 7 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMEEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQVVEADMLS KG LLGG EA WSSWHKED SIHGVRCI EM LI EST GMV SLHR QNAG VG QD SET I ELA PE YAE AIA TRAGA LAG IS SPMF QPC V PP KP WT GIT GG GY WA NG RR PL AL VR THS KK AL MRY EDV MPE VY KAIN IA QNT AW KINK VL AV AN VIT KW KH CP VED I PA I ER EL PM K P ED ID MN PE AL TAW KRA AA AV YR KD KAR SRR IS LE FM LE QANK FAN HK IWF PY NMD DW RGR V AV SMF N PQ GND MT KG LL LA KG KPI G KE GY WL KI HG AN CA GV DK VP F PER I K F IE EN HE NI MA CA KS PL ENT WW AE QD SP FC FL AF C FE Y AG V QH HGL SY NC SL PL AF DG CS GI QH FS AM LR DEV GG RA VN LL P SET V QD I Y G IV AK KV NE IL Q ADA I NG T D NE VV T D ENT GE I SE K V KL GT KA LG QW LA Y G V TR SV T K R S V ML T LA Y GS K EF G F R QQ V LED T I Q PA I D SG K GL MF T Q P N Q A AG Y MA K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V TP D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A X	1 9 0	20
R 2 5 7 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMEGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKR VGHVYKKAFMQVVEADMLS KG LLGG EA WSSWHKED SIHGVRCI EM LI EST GMV SLHR QNAG VG QD SET I ELA PE YAE AIA TRAGA LAG IS SPMF QPC V PP KP WT GIT GG GY WA NG RR PL AL VR THS KK AL MRY EDV MPE VY KAIN IA QNT AW KINK VL AV AN VIT KW KH CP VED I PA I ER EL PM K P ED ID MN PE AL TAW KRA AA AV YR KD KAR SRR IS LE FM LE QANK FAN HK IWF PY NMD DW RGR V AV SMF N PQ GND MT KG LL LA KG KPI G KE GY WL KI HG AN CA GV DK VP F PER I K F IE EN HE NI MA CA KS PL ENT WW AE QD SP FC FL AF C FE Y AG V QH HGL SY NC SL PL AF DG CS GI QH FS AM LR DEV GG RA VN LL P SET V QD I Y G IV AK KV NE IL Q ADA I NG T D NE VV T D ENT GE I SE K V KL GT KA LG QW LA Y G V TR SV T K R S V ML T LA Y GS K EF G F R QQ V LED T I Q PA I D SG K GL MF T Q P N Q A AG Y MA K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V TP D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A X	1 9 1	30

R 257 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVVGQDSETIELAPEYAEAIATIAGA LAGISPMFQPCVPPKWPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 9 2
R 257 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVVGQDSETIELAPEYAEAIATLAGA LAGISPMFQPCVPPKWPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 9 3
R 257 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVVGQDSETIELAPEYAEAIATLAGA LAGISPMFQPCVPPKWPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAGY VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 9 4

10

20

30

40

50

R 2 5 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATMAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKEIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVILADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 9 5
R 2 5 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATMAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKEIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVILADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 9 6
R 2 5 7 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATKAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKEIGKEYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVILADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 9 7

10

20

30

40

50

R 2 5 7 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATKAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPILVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNMDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	19 8	10
R 2 5 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATQAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPILVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNMDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	19 9	20
R 2 5 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATQAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPILVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNMDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	20 0	30

R 257 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATEAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	20 1
R 257 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATEAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	20 2
A 258 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRIGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSPLAFDGSCSGIQHFSAMRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	20 3

10

20

30

40

50

A 2 5 8 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQMVGQVVEADMLSKGLGGAEWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRIGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	20 4
A 2 5 8 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQMVGQVVEADMLSKGLGGAEWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRIGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ¤（¤は任意のアミノ酸であり、¤は任意の整数、例えば1～5である）	20 5
A 2 5 8 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQMVGQVVEADMLSKGLGGAEWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRIGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	20 6

10

20

30

40

50

A 2 5 8 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIELSTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRMGA LAGISPMFOPCVCVPPKPWTGTTGGGYWANGRRLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYYLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLSKAACKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTDLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 0 7
A 2 5 8 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIELSTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRMGA LAGISPMFOPCVCVPPKPWTGTTGGGYWANGRRLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYYLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLSKAACKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTDLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 0 8
A 2 5 8 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIELSTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRKGA LAGISPMFOPCVCVPPKPWTGTTGGGYWANGRRLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYYLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLSKAACKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTDLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 0 9
A 2 5 8 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED	2 1 0

10

20

30

40

50

	SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRKGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRDKKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQW VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	
A 2 5 8 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAIAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRP FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT LEAKHFKKNVEEQLNKR SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRKGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRDKKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQW VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 1 1
A 2 5 8 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAIAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRP FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT LEAKHFKKNVEEQLNKR SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRKGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRDKKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQW VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	2 1 2

10

20

30

40

50

A 258 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQQVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATREGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFDYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 1 3
A 258 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQQVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATREGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFDYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAG	2 1 4
G 259 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQQVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAIA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFDYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGMLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 1 5

10

20

30

40

50

G 259 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAIA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLV VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	21 6
G 259 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRALA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLV VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG ¤ (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	21 7
G 259 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKAFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRALA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCVPEDIPIAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLV VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	21 8

10

20

30

40

50

G 259M C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAMA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 1 9	10
G 259M C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAMA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 2 0	20
G 259K C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALAEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRKA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVVAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 2 1	30

G 259 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAKA LAGISPMFQPCVVPKWPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTQLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 2 2
G 259 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAQA LAGISPMFQPCVVPKWPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTQLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ¤ (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 2 3
G 259 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAQA LAGISPMFQPCVVPKWPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEKPKIQTQLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 2 4

10

20

30

40

50

G 259 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAEA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVIALDFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 2 5
G 259 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAEA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVIALDFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	2 2 6
A 260 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGI LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVIALDFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 2 7

10

20

30

40

50

A 260 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQMVKVVEADMLSKGLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGI LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 2 8	10
A 260 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQMVKVVEADMLSKGLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGL LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 2 9	20
A 260 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQMVKVVEADMLSKGLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGL LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 3 0	30

A 2 6 0 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGM LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 3 1
A 2 6 0 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGM LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	2 3 2
A 2 6 0 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGK LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 3 3

10

20

30

40

50

A 2 6 0 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSSHKE SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGK LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIOTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 3 4	10
A 2 6 0 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSSHKE SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGQ LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIOTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 3 5	20
A 2 6 0 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSSHKE SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGQ LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIOTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 3 6	30

A 2 6 0 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGE LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VOHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQDFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ~ 5である)	2 3 7
A 2 6 0 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGE LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VOHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQDFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	2 3 8
L 2 6 1 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA AAAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VOHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQDFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ~ 5である)	3 7

10

20

30

40

50

L 2 6 1 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA AAGISPMFQPCVPPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 3 9	10
L 2 6 1 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA AAGISPMFQPCVPPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG ■ (＊は任意のアミノ酸であり、＊は任意の整数、例えば1 ～5である)	2 4 0	20
L 2 6 1 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAFCMQVVEADMLSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA AAGISPMFQPCVPPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 4 1	30

L 2 6 1 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAHRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA MAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDI PAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMILEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFN PQGNDMTKGLLTAKGKPIKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVS VTVVAVEAMNWLKSAAKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ¤ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 4 2
L 2 6 1 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAHRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA MAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDI PAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMILEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFN PQGNDMTKGLLTAKGKPIKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVS VTVVAVEAMNWLKSAAKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 4 3
L 2 6 1 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAHRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVS LHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA KAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHC PVEDI PAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMILEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFN PQGNDMTKGLLTAKGKPIKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVS VTVVAVEAMNWLKSAAKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ¤ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 4 4

10

20

30

40

50

L 2 6 1 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLKPMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA QAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVFPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 4 5
L 2 6 1 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLKPMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA QAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVFPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 4 6
L 2 6 1 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLKPMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFO FLQEIKPEAVAYITIKTTIACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA QAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVFPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 4 7

10

20

30

40

50

L 2 6 1 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLGGAEWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA EAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNIELQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSQKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 4 8
L 2 6 1 E C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLGGAEWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA EAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNIELQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSQKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	2 4 9
A 2 6 2 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGVGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLGGAEWSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LIGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAIERELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCISLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNIELQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSQKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 5 0

10

20

30

40

50

A 262 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPPMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LLGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	25 1	10
A 262 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPPMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LLGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	25 2	20
A 262 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPPMIARINDWFEEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVQGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LLGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSMLRDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDTENTGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	25 3	30

A 2 6 2 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LMGISMFMQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	25 4
A 2 6 2 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LMGISMFMQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	25 5
A 2 6 2 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LMGISMFMQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRAVNLNPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	25 6

10

20

30

40

50

A 2 6 2 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LA AIP FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAFM QVVEADM LSKG LGG EAWSSWHKED SIHVGVR CIELM IESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELA PEYAEAIATRAGA LKGISPMFQPCVVPPKPWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKW KHC PVEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLTLAKGKPIGKE GYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPL ENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SPLA FDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTI QPAIDSGKGLMFTQP NQAAGY MAKLIWESVS VTVVAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQYEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLA DFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 5 7
A 2 6 2 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LA AIP FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAFM QVVEADM LSKG LGG EAWSSWHKED SIHVGVR CIELM IESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELA PEYAEAIATRAGA LKGISPMFQPCVVPPKPWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKW KHC PVEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLTLAKGKPIGKE GYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPL ENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SPLA FDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTI QPAIDSGKGLMFTQP NQAAGY MAKLIWESVS VTVVAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQYEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLA DFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ■ (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 5 8
A 2 6 2 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LA AIP FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAFM QVVEADM LSKG LGG EAWSSWHKED SIHVGVR CIELM IESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELA PEYAEAIATRAGA LKGISPMFQPCVVPPKPWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKK ALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKW KHC PVEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLTLAKGKPIGKE GYYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPL ENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SPLA FDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTI QPAIDSGKGLMFTQP NQAAGY MAKLIWESVS VTVVAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQYEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLA DFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 5 9
A 2 6 2 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDEI LA AIP FNTLADHYGERLAREQ LALEHES YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ	2 6 0

10

20

30

40

50

	<p>FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMALKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LEGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTIAKGPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	
A 2 6 2 E C末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMALKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LEGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTIAKGPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG</p>	2 6 1
S 4 3 R C末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQALEHERYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEVAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMALKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTIAKGPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLDEVGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	2 6 2

10

20

30

40

50

S 4 3 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYRMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSTVVAEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRNLMLFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGPNLNLRDILESDFAFAG	2 6 3
E 4 5 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYRMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSTVVAEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRNLMLFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGPNLNLRDILESDFAFAG n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 6 4
E 4 5 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYRMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMILSKGLLGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYYWLIKHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSTVVAEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEQYKKPIQTRNLMLFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGPNLNLRDILESDFAFAG	2 6 5

10

20

30

40

50

G 4 7 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEM R EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPEDIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLACFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 6 6
G 4 7 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEM R EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPEDIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLACFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 6 7
R 2 5 7 W C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEM G EARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIAT W AGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPEDIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLACFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLWSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 6 8

10

20

30

40

50

R 257 W C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT <u>WAGA</u> LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGN DMTKGLLT <u>LAKGP</u> IGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPL ENTWVAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNC CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA AVEAMNW LKSAAKLLAAEV VKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSE IDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTV WAHEKYGIESFALIHDSFGTIP ADA NLFKAVRE TM VDTYESCDV LA DFYDQFADQLH ESQLDKMP PALPA KG N L R D ILE SDFA FAG	26 9	10
G 259 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT <u>RARA</u> LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGN DMTKGLLT <u>LAKGP</u> IGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPL ENTWVAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNC CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA AVEAMNW LKSAAKLLAAEV VKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSE IDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTV WAHEKYGIESFALIHDSFGTIP ADA NLFKAVRE TM VDTYESCDV LA DFYDQFADQLH ESQLDKMP PALPA KG N L R D ILE SDFA FAX	27 0	20
G 259 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLLPKMIARINDWFEEVKA KRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIAT <u>RARA</u> LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGN DMTKGLLT <u>LAKGP</u> IGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPL ENTWVAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNC CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA AVEAMNW LKSAAKLLAAEV VKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSE IDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTV WAHEKYGIESFALIHDSFGTIP ADA NLFKAVRE TM VDTYESCDV LA DFYDQFADQLH ESQLDKMP PALPA KG N L R D ILE SDFA FAG	27 1	30

A 2 6 0 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGR LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 7 2
A 2 6 0 R C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGR LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	2 7 3
N 1 6 5 W C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQIALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGR LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 7 4

10

20

30

40

50

N 1 6 5 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKWVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAL AGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY PEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP DIDMNPEALTAWKRAAAAVYRDKDARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF YNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYWLKIHGANCAG VDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAGV QHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG VAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYGV TRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSQKGLMFTQPNQAAGYM AKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW PDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP FVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM DTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	2 7 5	10
E 1 6 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKWVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRDKDARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYWLKIHGANCAG GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSQKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG ¤ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 7 6	20
E 1 6 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKWVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRDKDARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPGNDMTKGLLTLAKGPIGKEGYWLKIHGANCAG GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSQKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	2 7 7	30

E 167 N C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVNEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKGTLKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 7 8
E 167 N C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVNEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKGTLKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 7 9
E 168 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVNEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDI DMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENTGEISEKVKGTLKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLOPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 8 0

10

20

30

40

50

E 1 6 8 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEIQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAAKLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFGQFRLQPTINTKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	2 8 1
E 1 6 8 T C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEIQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAAKLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFGQFRLQPTINTKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 8 2
E 1 6 8 T C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEIQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFNPGNDMTKGLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFFERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCSSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAAKLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHW TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFGQFRLQPTINTKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG	2 8 3

10

20

30

40

50

E 168V C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAEGSCSGIQHFSAMLRDEVGRANLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVTVVAEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	28 4	10
E 168V C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAEGSCSGIQHFSAMLRDEVGRANLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVTVVAEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	28 5	20
A 181F C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEQLNKRVGHVYKKFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSPLAEGSCSGIQHFSAMLRDEVGRANLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVTVVAEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	28 6	30

A 181 F C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVVYKKFFMQVVEADMLS SKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKGTLKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDS GKGMLFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSKA KLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	28 7
A 181 W C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVVYKKFFMQVVEADMLS SKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKGTLKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDS GKGMLFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSKA KLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	28 8
A 181 W C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVVYKKFFMQVVEADMLS SKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAI EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMWDWRGRVYAVSMFNPOGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNELLQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKGTLKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDS GKGMLFTQPQNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSKA KLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADEFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	28 9

10

20

30

40

50

Q 184 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQLSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX ¤ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～ ～5である)	29 0
Q 184 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQLSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	29 1
E 187 F C末端バリ アント	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAONTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIREEELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWVAEQLSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPQQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLSAAKLLAAEVVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG ¤ (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～ ～5である)	29 2

10

20

30

40

50

E 1 8 7 F C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG G	2 9 3	10
T 7 R N A ポリメラ ーゼ C 末端 バリアント (C 末端 G G)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAG G	2 9 4	20
T 7 R N A ポリメラ ーゼ C 末端 (C 末端 A)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSWHKED SIHGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGYWANGRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITWKHCPVEDIPAIREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTDENGEISEKVKLGTAKAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIOPAIDSGKGLMFTQPNAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLDILESDFAFAA	2 9 5	30

T 7 R N A ポリメラ ーゼ C 末端 バリアント (C 末端 A A)	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSCKGLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNOAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAAA A	29 6	10
G 47 A C 末端バリ アント (C 末端 G G)	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSCKGLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNOAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAAG G	29 7	20
G 47 A C 末端バリ アント (C 末端 A)	MNTINIAKNDSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVYKKAFMQVVEADMLSCKGLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCVPEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYYLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGRVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTDTENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNOAGY MAKLIWESVSVTVAEAMNLKSAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAAA A	29 8	30

G 4 7 A C 末端バリ アント (C 末端 A A)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAEREELPMKP EDI DMN PEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWILAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGMLFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTDLNMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAA A	2 9 9
S 4 3 A / G 4 7 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAEREELPMKP EDI DMN PEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWILAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGMLFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTDLNMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	3 0 0
S 4 3 A / G 4 7 A C 末端バリ アント (C 末端 G)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRKGHVKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKVLAVANVITKWKHCPVEDIPIAEREELPMKP EDI DMN PEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFPQGNDMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGanca GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCNSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWILAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGMLFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFPVWQEKPKIQTDLNMLFGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLAQFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	3 0 1

10

20

30

40

【 0 3 3 5 】

実施例 2 . T 7 RNA ポリメラーゼバリアントを使用して生成された h E P O m R N A の純度は、野生型 T 7 RNA ポリメラーゼを使用して生成された h E P O m R N A の純度に匹敵する。

h E P O D N A 鑄型、ならびに(1)野生型(W T) T 7 RNA ポリメラーゼ(W T # 1 及び W T # 2)、(2)G 4 7 A C 末端 G T 7 RNA ポリメラーゼバリアント(「 G 4 7 A * 」)(配列番号 110)、及び(3)S 4 3 A C 末端 G T 7 RNA ポリメラーゼバリアント(「 S 4 3 A * 」)(配列番号 108)を使用して、インビトロ転写反応を行った。 D B A A (ジブチルアンモニウムアセテート) H P L C 分析は、すべて

50

の h E P O 転写物の純度がほぼ同じであったことを示した(図1)。

【0336】

実施例3. T7 RNAポリメラーゼバリアントを使用して生成されたh E P O m R N Aは、細胞サイトカイン応答を示さない。

B J 線維芽細胞を、実施例2に記載されるI V T反応により生成されたh E P O m R N Aでトランスフェクトした。m R N Aを、精製しないか、または逆相(R P)クロマトグラフィーにより精製した。図2(左のグラフ)に示されるように、S 4 3 A * T7 R N AポリメラーゼバリアントまたはG 4 7 A * T7 R N Aポリメラーゼバリアントを使用して生成された精製されていないm R N Aは、W T T7ポリメラーゼを使用して生成された精製されたm R N Aと同程度に「コールド(c o l d)」(サイトカイン応答を示さなかった)であった。ほぼ同等のm R N A発現レベルを、図2(右のグラフ)に示す。これらの実験で使用されたm R N Aは、いずれのヌクレオチド修飾も含まなかった。

10

【0337】

m^1 ヌクレオチド修飾(図3、上のグラフ)または $m^0.5$ Uヌクレオチド修飾(図3、下のグラフ)のいずれかを含むh E P O m R N Aを使用して、同様の細胞トランスフェクションアッセイを繰り返した。G 4 7 A * 及びS 4 3 A * T7 R N Aポリメラーゼバリアントを使用して生成された精製されていない m^1 h E P O m R N AでトランスフェクトされたB J 線維芽細胞は、W T T7 R N Aポリメラーゼを使用して生成された精製されていない m^1 h E P O m R N Aでトランスフェクトされた細胞より低いI F N 応答を示した。ほぼ同等のm R N A発現レベルを、図4に示す。

20

【0338】

次いで、単球由来マクロファージ(M D M)を使用して、さらにサイトカイン応答を試験した。I P 1 0 対ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシリトランスクレオチド(H P R T)の比を、実施例2に記載される条件下で生成されたh E P O m R N AでトランスフェクトされたM D Mで測定した。M D Mは、非修飾化学に対して非常に感受性であるため、試料間の強烈な違いは、非修飾h E P O m R N Aを使用して見られなかった。しかしながら、G 4 7 A * 及びS 4 3 A * T7 R N Aポリメラーゼバリアントを使用して生成された精製されていない m^1 h E P O m R N AでトランスフェクトされたM D Mは、W T T7 R N Aポリメラーゼを使用して生成された精製された m^1 h E P O m R N AでトランスフェクトされたM D Mより低いI P 1 0 応答を示した(図5、上のグラフ)。

30

【0339】

実施例4. T7 RNAポリメラーゼバリアントは、W T T7 RNAポリメラーゼよりも少ない混入d s R N Aに関連するm R N Aを生成する。

標準d s R N A E L I S Aを使用して、非修飾h E P O m R N A(図7)または m^1 ヌクレオチド修飾(図8、上のグラフ)もしくは $m^0.5$ Uヌクレオチド修飾(図8、下のグラフ)のいずれかを含むh E P O m R N Aを生成するために使用されるI V T反応におけるd s R N A混入物(例えば、40ヌクレオチド塩基対よりも長い)を評価した。d s R N Aアッセイは、S 4 3 A * T7 R N Aポリメラーゼバリアント及びG 4 7 A * T7 R N Aポリメラーゼバリアントが、W T T7 R N Aポリメラーゼよりも少ないd s R N Aを生成したことを示した(図7及び図8)。

40

【0340】

実施例5. T7 RNAポリメラーゼバリアントは、m R N Aの3'不均一性を低減する。

転写物の3'不均一性は、RNase T1消化を使用して測定することができる。RNase T1は、Gヌクレオチドの後にm R N Aを特異的に切断する。エンドヌクレオチド切断は、5'水酸化物(OH)及び3'一リン酸(mP)「瘢痕」をもたらす。したがって、RNase T1消化は、3'末端で鋲型のない付加を有する及び有さない転写物を区別するために使用され得る。この実施例では、実施例2で生成されたh E P O m R N Aは、ポリAテール及びXbaI制限部位(例えば、A n U C U A G)で終了する。

50

WT T7 RNAポリメラーゼを使用して生成されたh E P O mRNA、S43A*T7 RNAポリメラーゼバリアント、またはG47A*T7 RNAポリメラーゼバリアントを、RNase T1で消化し、LCMSによって分析して、オリゴフィンガーブリントを生成した。均質な3'末端(5'OH/3'OH)は、32780Daでピークに達することが見出されたが、一方で、「瘢痕」(5'OH/3'mP)は、32860Daでピークに達した(図9A)。「瘢痕」は、転写物が、カルボキシ末端で錆型のない付加を有したことを見出す。T7 RNAポリメラーゼバリアントを使用して生成されたh E P O mRNA、S43A*、またはG47A*は、より高い3'末端集団分布を有し、それらがより均質な3'末端及び改善された3'末端不均一性を有することを見出す(図9B)。

10

【0341】

実施例6. 「より均質な」3'末端を生成するT7 RNAポリメラーゼバリアント
アッセイを使用して、T7 RNAPバリアント、G47A*、及びS43A*によって生成された錆型のない付加の程度を調べた。このアッセイでは、酵素ポリメラーゼを使用してライゲーションレフトマーを作製した(例えば、図11Aを参照のこと)。次いで、レフトマーを、5'-モノリン酸化ライトマーRNAにすぐ隣接する完全に相補的なDNAスプリントにアニーリングした。DNAスプリントは、典型的には、40nt長であり、ライトマーは、典型的には、5'末端においてフルオロフォアで修飾される。次いで、DNALリガーゼIを、触媒条件下で添加し、反応がEDTAでクエンチされる前に、所望の反応時間の間、ライゲーションを進めた。次いで、混合物を、変性ポリアクリルアミドゲル(PAGE-D)に充填される前に、95°Cで5分間4Mの尿素中で変性した(図11B)。ゲル中のアクリルアミドのパーセンテージは、予期される構築物の長さによるが、典型的には、>50ntのレフトマー長については6%アクリルアミド、及び典型的なmRNAの長さにアプローチするレフトマーについては20%アクリルアミドである。6%アクリルアミドゲルを、一定の180Vで25分間実行し、20%アクリルアミドゲルを、一定の180Vで120分間実行した。次いで、ゲルを、ライトマー及び新しくライゲーションされた産物に存在するフルオロフォアに適切な励起波長及び発光波長を使用してTyphoonまたは同様のスキャナーで画像化した。ライトマー及びライゲーションされた産物は、サイズに基づくゲル上で異なって移動し、2つのバンドの強度は、ライゲーション反応の効率に正確に対応するであろう。レフトマーの酵素合成の間の錆型のないヌクレオチド付加の程度がより大きいほど、予期されるライゲーション収量はより低い。

20

【0342】

ライゲーション収量を、ライゲーションされていないライトマー及びライゲーションされた完全長産物に対応するバンドの比率として計算した。反応を、反応収量の差を誇張するために早く終了した。これらの結果に基づいて、T7 RNAPバリアント G47A*は、レフトマーRNAの3'末端で最も少ない錆型のないヌクレオチドを組み込んだ。

30

【0343】

実施例7. 単回インビトロ転写反応におけるキャップされたmRNAの生成
標準インビトロ転写(IVT)アッセイでは、T7 RNAポリメラーゼは、5'GTPで転写を開始することが好ましい。そのような標準IVTアッセイによって生成された一本鎖RNA(ssRNA)分子は、別々の酵素キャッピングステップを必要とする(図13)。例えば、キャップ1 RNA(7mGpppN2'-Om-RNA)は、ワクシニアキャッピング及び2'-O-メチルトランスフェラーゼ(2'OMTase)を使用してキャッピングアッセイにおいて生成され得る。キャップ1は、典型的には、細胞における効率的なタンパク質翻訳及びmRNA安定性のために使用される。しかしながら、いくつかのmRNA配列は、キャッピングすることが難しく、キャッピング/メチル化酵素は、非常に高価である。

40

【0344】

本開示は、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるT7 RNAポリメラーゼバリアント(例えば、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*)を使用したイン

50

ビトロ転写アッセイにおいて、ssRNA（例えば、mRNA）を共転写で、トリヌクレオチドでキャッピングする方法を提供する。効率的な共転写キャッピングには、通常、5'ATPならびに等モル濃度のNTP及びトリヌクレオチドを用いて転写を開始する二本鎖DNA（dsDNA）鑄型が含まれる。通常、T7 RNAポリメラーゼは、5'ATPを用いると開始活性が著しく低下した。しかしながら、XAG（Xは任意のヌクレオチド、例えば、5' ^mGpppである）トリヌクレオチドの存在下で、5'ATPを用いたT7 RNAポリメラーゼの限定された開始活性は、5'ATPではなくトリヌクレオチドで開始が推進され、キャップされたmRNAを共転写で生成する。

【0345】

例示的な市販のジ-及びトリヌクレオチドキャップを、図14Aに示す。ワクシニアキヤップ1は、典型的なジ-ヌクレオチドキャップであり、共転写で添加することができない。共転写で添加され得る別のジ-ヌクレオチドキャップは、抗逆方向キャップ類似体（Anti-Reverse Cap Analog）（ARCA）であり、また市販されている（例えば、Thermo Fisherから、カタログ番号：AM8045）。ARCAは、3'OH基（^mGに近接する）が-OCH₃で置き換えられる修飾されたキャップ類似体である。ARCAを、この研究において記載される共転写キャッピングアッセイのいくつかにおいて対照として使用する。

【0346】

共転写キャッピングアッセイでは、ヒトEPO（hEPO）DNA鑄型を使用した。5mMのトリヌクレオチドありまたはなしで5mM NTPもまたアッセイ混合物に存在した（^mGpppAG、^mGmpppAG、及びARCA）。非修飾mRNA産物を、RNAse HキャップアッセイまたはLCMSによって分析した。表5に示されるように、野生型（WT）T7 RNAポリメラーゼ及びT7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*は、均等に高い効率で完全にキャップされたmRNAを生成することができた。RNA収量は、異なるIVT反応（図14B）の中でも匹敵し、高度の完全性を有するmRNA産物が生成された（図14C）。

【表5】

表5. WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*のキャッピング効率

T7 RNAポリメラーゼ	トリヌクレオチド	キャッピング効率(%)
WT	-	0.0
T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*	-	0.0
WT	^m GpppAG	93.9
T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*	^m GpppAG	100.0
WT	^m GpppAG	100.0
T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*	^m GpppAG	100.0

【0347】

mRNA産物の免疫刺激活性を、BJ線維芽細胞におけるサイトカイン（IFN）生成を誘発するそれらの能力を評価することによって評価した。興味深いことに、WT T7 RNAポリメラーゼは、高いサイトカイン応答を誘発した非修飾mRNAを生成したが、一方で、T7 RNAポリメラーゼバリアント G47A*は、BJ線維芽細胞においてサ

10

20

30

40

50

イトカイン生成を刺激しなかった非修飾mRNAを生成し(図14D)、IVT/キャッピングアッセイの後にRNAをさらに精製する必要性を最小化した。mRNA産物からのhEPO発現もまた評価した。hEPO発現を、WT T7 RNAポリメラーゼによって生成されたmRNAから観察したが、一方で、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*によって生成されたmRNAは、ワクシニアキャップ1でキャップされた1-メチル-シュードウリジンで修飾されたmRNAに匹敵するhEPO発現をもたらした(図14E)。LCMS実験はまた、トリヌクレオチド組み込み効率は2つの酵素と同等であるように思われたが、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*が、WT T7 RNAポリメラーゼより均質なRNAを生成したことを示す(図15)。

【0348】

異なる実験では、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*のキャッピング効率を、ワクシニアキャップ1を使用する標準キャッピングアッセイにおいて達成された効率と比較した。この実験では、反応混合物は、鋳型鎖上の+1位でデオキシチミジンを含むhEPO dsDNA鋳型(第1の鋳型のあるヌクレオチドについては「start」とも命名される)、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*、ならびに等モル(7.5 mM)NTP及びGAGトリヌクレオチドを含んだ。得られるmRNA産物を、オリゴdTを使用して精製し、キャッピング効率、インビトロサイトカイン応答、及びインビトロ発現について分析した。結果は、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*が、標準キャッピングプロセスと比較できる程に高い効率でキャップされたmRNAを生成し(表6)、mRNAは、BJ線維芽細胞においてサイトカイン応答を誘発せず(図16A)、mRNAは、BJ線維芽細胞において高いhEPO発現をもたらす(図16B)ことを示す。

【表6】

表6. 共転写キャッピング及び標準プロセスのキャッピング効率

キャップ同一性	機能性キャップ%
キャップなし	0
GAG(ワンポット)	96.0
ワクシニアキャップ1(+RP)	99.8

【0349】

要約すると、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*は、XAGトリヌクレオチド(例えば、GAGまたはGmAG)の存在下で、鋳型鎖の3'dTTPで転写を効率的に開始することができることを本明細書に示された。アッセイにおいてNTPとして等モル濃度を条件として、トリヌクレオチドは、免疫応答を刺激しない完全にキャップされたmRNAを生成するために共転写で添加され、高タンパク質発現をもたらし得る(図17)。

【0350】

実施例8.5 GTP(Gstart)または5'ATP(Astart)での転写開始の比較

実施例7に記載される共転写キャッピングアッセイを使用して、転写開始が5'-GTP(Gstart)または5'-ATP(Astart)を必要とするモデル構築物へのキャッピング効率を比較した。5'UTR及び47-mer RNAオリゴヌクレオチドをコードするモデル構築物を、IVTの鋳型として使用した。全RNA産物を、質量分析によって評価し、結果は、Astart構築物が、Gstart構築物と比較してGAGまたはGmAGトリヌクレオチドをより効率的に組み込むことを示す(図18A)。データはここでは示されていないが、Cstart及びUstart構築物が少量のキャップ

10

20

30

40

50

プされた生成物を生成したこともまた観察された。

【0351】

さらに、RNA産物を、RNase H切断させ、RNA産物の切断された5'末端を、質量分析を使用して分析し、キャップの存在を判定した。同様の結果を全RNA産物のものとして得た(図18B)。

【0352】

図18A及び図18Bで使用されるモデル構築物を使用して、トリヌクレオチド滴定実験もまた行った。共転写キャッピングアッセイでは、5mMのNTP(A、等モル比で修飾されたU、G、C)を使用したが、一方で、トリヌクレオチド(GAGまたはGmA G)の濃度は、変化し、NTP及びトリヌクレオチドの異なるモル比でキャッピング効率を評価した。次いで、粗RNA産物をLC-MSによって分析した。結果は、NTP及びトリヌクレオチドが、GAG及びGmA Gの両方について等モル比であるときに、キャッピング効率が最も高いことを示す(表7)。

【表7】

表7. トリヌクレオチド滴定

トリヌクレオチド濃度 (mM)	キャップ% (GAG)	キャップ% (GmA G)
5 (EQ)	96.0	88.3
4	92.8	85.6
3	90.3	82.8
2	81.7	74.5
1	66.1	57.0
0.5	42.5	48.6
0	0	0

【0353】

実施例9.1 - メチル - シュードウリジンで化学修飾されたmRNAのキャッピング
1 - メチル - シュードウリジンで化学修飾されたmRNAの共転写キャッピングもまた評価した。3つのモデル構築物を使用した: hEPO、Luc(ルシフェラーゼをコードする)、及びeGFP。すべてのIVT鑄型は、Start鑄型であった。鑄型は、PCR断片またはプラスミドであり得る。キャッピングアッセイ反応混合物は、鑄型、T7 RNAポリメラーゼバリアントG47A*、7.5mMのNTP、及び7.5mMのトリヌクレオチド(GAGまたはGmA G)を含んだ。NTP中のUTPを、1 - メチルシュードウリジンで置き換えて、化学修飾されたmRNAを生成した。ワクシニアキャップ1を、標準キャッピングアッセイにおいて生成対照として使用した。mRNA産物を、RNase Hキャッピングアッセイ、T1フィンガープリンティング、及びフラグメントアナライザーを使用して分析し、それらの完全性を判定した。サイトカイン応答を誘発すること及びBJ線維芽細胞においてコードされたタンパク質を発現することにおけるmRNA産物の能力もまた試験した。

【0354】

表8に示されるように、PCR断片から生成されたすべての3つのモデル構築物の1 - メチル - シュードウリジンで化学修飾されたmRNAは、効率的にキャップされ、キャッピング効率は、ワクシニアキャップ1対照に匹敵した。化学Aは、非修飾ウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示し、化学Bは、1 - メチル - シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示す。化学Cは、5 - メチル - シチジン三リン酸及び1 - メチル - シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドを示す。プラスミド鑄型から生成された1 - メチル - シュードウリジンで化学修飾されたmRNAについて同様の結果を得た(表9)。さらに、

10

20

30

40

50

R N a s e T 1 フィンガープリンティング分析は、P C R 断片鑄型を使用してモデル構築物から生成されたm R N A が、正しい配列のものであったことを示した（図 1 9 A）。P C R 断片鑄型（図 1 9 B）またはプラスミド鑄型（図 2 0 C）のいずれかから生成されたm R N A もまた、高度の完全性を有することを示した。P C R 断片鑄型ならびにプラスミド鑄型から生成されたキャップされたm R N A は、B J 線維芽細胞においていずれのサイトカイン発現も誘発しなかった（図 1 9 C、図 2 0 D）。さらに、プラスミド鑄型から生成されたm R N A は、B J 線維芽細胞においてコードされたタンパク質の発現をもたらした（図 2 0 E～図 2 0 G）。G A G キャップされたm R N A の発現レベルは、わずかにより高いか、ワクシニアキャップ 1 対照m R N A からの発現レベルに匹敵するか、またはそれよりもわずかに低かった。

【表 8】

表 8. 1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたm R N A のキャッピング効率—P C R 断片鑄型

構築物	キャップ	キャップ%（報告された%）
h E P O	キャップなし	0
h E P O	キャップ 1 (ワクシニア)	99.8 (n/a)
h E P O	G A G (トリヌクレオチド)	96.1
h E P O	G m A G (トリヌクレオチド)	94.9
L u c	キャップなし	0
L u c	キャップ 1 (ワクシニア)	85.7 (10%)
L u c	G A G (トリヌクレオチド)	94.4
L u c	G m A G (トリヌクレオチド)	93.3
e G F P	キャップなし	0
e G F P	キャップ 1 (ワクシニア)	99.4 (88%)
e G F P	G A G (トリヌクレオチド)	93.8
e G F P	G m A G (トリヌクレオチド)	94.9

10

20

30

40

50

【表9】

表9. 1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたmRNAのキャッピング効率—
プラスミド鑄型

構築物	キャップ	キャップ% (報告された%)
h E P O	キャップなし	0
h E P O	キャップ1 (ワクシニア)	99.8 (n/a)
h E P O	GAG (トリヌクレオチド)	96.4
h E P O	GmA G (トリヌクレオチド)	96.3
L u c	キャップなし	0
L u c	キャップ1 (ワクシニア)	85.7 (100%)
L u c	GAG (トリヌクレオチド)	95.7
L u c	GmA G (トリヌクレオチド)	99.6
e G F P e g d	キャップなし	0
e G F P d e g	キャップ1 (ワクシニア)	92.1 (n/a)
e G F P d e g	GAG (トリヌクレオチド)	94.3
e G F P d e g	GmA G (トリヌクレオチド)	92.1

10

20

30

【0355】

共転写キャッピングアッセイにおけるNTP消費もまた、モデル構築物h E P O (図20A)及びe G F P (図20B)についてプラスミド鑄型を使用する反応を評価した。結果は、GAG及びGmA Gが、アッセイの期間(2時間)にわたってほとんど消費されなかったことを示す。これは、アッセイにおけるトリヌクレオチドの濃度が極端に超過していたという事実と一貫している。アッセイが完了した後にトリヌクレオチドを回収することが可能であり得る。

【0356】

実施例10. RNA収量に影響を与えるT7 RNAポリメラーゼC末端での置換
G47A*ポリメラーゼは、翻訳されたタンパク質のC末端で余分なグリシン(「フットグリシン」)を含む。フットグリシンの存在を、トリプシン消化及び精製されたG47A*タンパク質の質量分析によって確認した(データには示されていない)。G47A*のC末端フット領域の役割を、G47A*の活性部位に対するその近接のために、より詳細に試験した。

【0357】

インビトロ転写(IVT)反応を、h E P O DNA鑄型、ならびに(1)野生型(WT)T7 RNAポリメラーゼ(WT)、(2)フットグリシンを有するWT-T7 RNAポリメラーゼ(WT+G)、(3)2つのフットグリシンを有するWT-T7 RNAポリメラーゼ(WT+GG)、(4)2つのフットアラニンを有する野生型RNAポリメラーゼ(WT+AA)、(5)G47A-T7 RNAポリメラーゼバリアント、(6)フットグリシンを有するG47A*T7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A+G)、(7)2つのフットグリシンを有するG47A-T7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A+GG)、(7)2つのフットアラニンを有するG47A-T7 RNAポリメラーゼバリアント(G47A+AA)、(9)S43A/G47A-T7 RNAポリメラーゼバリアント(S43A/G47A)、及び(10)フットグリシンを有するS43A/G47A-T7 RNAポリメラーゼバリアント(S43A/G47A+G)を使用して行った。IVT反応混合物は、h E P O DNA鑄型、上に列挙されるT7 RNAポリメラーゼ

40

50

ゼバリアントのうちの1つ、及びNTPを含んだ。非修飾化学を有するIVT反応(図2-2)を、標準NTP(ATP、CTP、GTP、UTP)で行ったが、一方で、シュードウリジン修飾(m1-)化学を有するIVT反応(図2-3)は、UTPの代わりに1-メチルシュードウリジンを含み、化学修飾されたmRNAを生成した。RNA収量を、UV吸収によって測定した。

【0358】

hEPO mRNA収量は、WTまたはG47A*バリアントT7 RNAポリメラーゼのいずれかにおいてフットグリシンの存在とともに減少した(図2-2及図2-3)。mRNA収量は、WT T7 RNAポリメラーゼよりもG47A*でのより少ない減少があったが、2つのフットグリシンまたは2つのフットアラニン残基のいずれかとともに減少し続けた。

10

【0359】

実施例11.3'-mRNA不均一性へのT7 RNAポリメラーゼフットグリシンの影響

実施例5のように、フットグリシンを有するWTまたはG47A*T7 RNAPを使用して生成されたhEPO mRNAを、RNase T1で消化し、LCMSによって分析して、オリゴフィンガープリントを生成した。WT T7 RNAP IVT反応を、NTPの等モル濃度(WT EQ)またはGTP及びATP(WTアルファ(A))のモル過剰のいずれかで行った。LCMS分析は、均質な3'末端(5'OH/3'OH)は、32780Daでピークに達し、「瘢痕」(5'OH/3'mP)は、32860Daでピークに達することを明らかにした(図2-4A)。「瘢痕」は、転写物が、3'末端で鑄型のない付加を有したこと示す。WT T7 RNAP及びNTPの等モル濃度(WT EQ)を使用して生成されたhEPO mRNAは、3'末端集団分布を減少し、減少された3'均一性及び鑄型のない付加を有するより多くのランオン生成物を示す(図2-4B)。しかしながら、フットグリシンを有するG47A*T7 RNAPを使用して生成されたhEPO mRNAは、より高い3'末端集団分布を有し、それらはより均質な3'末端を有し、3'末端の不均一性を改善したことを示す(図2-4B)。

20

【0360】

hEPO 3'mRNA均一性へのT7 RNAPフット領域の影響を直接試験するためには、IVT反応を、hEPO DNA鑄型、ならびに(1)野生型T7 RNAP(WT)、(2)フットグリシンを有するWT T7 RNAP(WT+G)、(3)2つのフットグリシンを有するWT T7 RNAP(WT+GG)、(4)2つのフットアラニンを有する野生型T7 RNAP(WT+AA)、(5)G47A T7 RNAPバリアント、(6)フットグリシンを有するG47A*T7 RNAPバリアント(G47A+G)、(7)2つのフットグリシンを有するG47A T7 RNAPバリアント(G47A+GG)、(8)2つのフットアラニンを有するG47A T7 RNAPバリアント(G47A+AA)、(9)S43A/G47A T7 RNAPバリアント(S43A/G47A)、及び(10)フットグリシンを有するS43A/G47A T7 RNAPバリアント(S43A/G47A+G)を使用して行った。IVT反応混合物は、hEPO DNA鑄型、上に列挙されるT7 RNAPバリアントのうちの1つ、及び等モルNTPを含んだ。IVT反応を行い、それは、非修飾mRNA(図2-4C)またはシュードウリジン修飾されたmRNA(図2-4D)のいずれかを生成した。hEPO mRNAを、実施例5及び上記のようにRNase T1で消化した。フットグリシンの存在は、hEPO mRNA 3'末端の均一性を60%増加させた(図2-4C~図2-4D)。T7 RNAPにおける、2つのフットグリシンまたは2つのアラニンもまた、WTまたはG47A T7 RNAPにわたって3'末端の均一性を60~70%改善した(図2-4C及び図2-4D)。これらの結果は、T7 RNAP中の単一のフットグリシンの存在が、図2-4Bに観察される3'末端均一性を増加させることを示す。

40

【0361】

実施例12.免疫刺激へのT7 RNAPフットグリシンの影響

50

h E P O m R N A 生成物への免疫応答を刺激することにおける T 7 R N A P フットグリシンの役割は、実施例 7 のように、B J 線維芽細胞におけるサイトカイン (I F N) 生成を誘発するそれらの能力を評価することによって評価した。興味深いことに、W T T 7 R N A P 生成された非修飾及びシードウリジン修飾 h E P O m R N A が、高いサイトカイン応答を誘発したが、一方で、フットグリシン生成された非修飾及びシードウリジン修飾 h E P O m R N A を有する W T T 7 R N A P は、B J 線維芽細胞においてより少ないサイトカイン生成を誘発した (図 25)。フットグリシンを有する G 4 7 A * バリアント T 7 R N A P によって生成された h E P O m R N A は、B J 線維芽細胞においてサイトカイン生成を刺激することをしそびれて、免疫応答を誘発しそびれることにおいてフットグリシン及び G 4 7 A T 7 R N A ポリメラーゼバリアントの間の相加的効果を示す (図 25)。

【0362】

実施例 13. m R N A 生成への T 7 R N A ポリメラーゼフットグリシンの影響

アッセイを開発して、W T 及び G 4 7 A バリアント T 7 R N A P によって生成された h E P O m R N A 種へのフットグリシン残基の効果を調べた。試験された T 7 R N A P は、以下の通りであった。(1) W T + G (フットグリシン)、(2) G 4 7 A バリアント、または(3) G 4 7 A バリアント + G (G 4 7 A * バリアント)。I V T 反応は、列挙される T 7 R N A P のうちの 1 つ、shORF an 鑄型、NTP (非修飾または修飾された UTP のいずれか)、及び ³²P - CTP を含んだ。反応を、所望の長さの時間の後に EDTA で終了した。次いで、反応混合物を、変性ポリアクリルアミドゲル (20% アクリルアミド) に充填される前に、95°で 5 分間 4 M の尿素中で変性した (図 26 A)。ゲルを 20 ワットで 30 分間、次いで 40 ワットで 2 時間実行した。画像を、Typoon スキャナーを使用する画像化の前にホスフォイメージャースクリーンに移動した (1 時間の露光時間)。³²P - CTP の使用は、完全長生成物 (shORF an m R N A を示す)、ランオン転写生成物 (上の箱) (図 26 A)、及び逆相補 m R N A 産物 (図 26 A、下の箱) を標識する。結果はまた、以下の表 10 に要約される。これらのデータは、フットグリシンを有する T 7 R N A P が、W T または G 4 7 A T 7 R N A P のいずれかより少ない混入 d s R N A に関連することを示す (図 26 A (下の箱) 及び図 26 B)。さらに、フットグリシンは、W T または G 4 7 A バリアント T 7 R N A P と比較して、減少されたランオン転写 (図 26 A (上の箱)、図 26 B) と関連する。

【表 10】

表 10. 逆相補 (R C) : 完全長 (F L) m R N A 比

変異体	R C : F L	完全長 (G 4 7 A + G と比較)
W T + G (非修飾 m R N A)	—	0. 3
G 4 7 A (非修飾 m R N A)	0. 16	1
G 4 7 A + G (G 4 7 A *) (非修飾 m R N A)	—	1
W T + G (シードウリジン m R N A)	—	0. 2
G 4 7 A (シードウリジン m R N A)	0. 18	1. 2
G 4 7 A + G (シードウリジン m R N A)	—	1

【0363】

10

20

30

40

50

実施例 14. ホタルルシフェラーゼをコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m RNA の繰り返し投与の評価

インビトロ転写 mRNA は、典型的には、例えば、逆相クロマトグラフィー (RP) によって精製され、サイトカイン誘発不純物 (dsRNA) 及びプロセス不純物（例えば、タンパク質 / DNA）を除去し、全 RNA 純度を改善する。しかしながら、この精製プロセスはしばしば、mRNA 産物の著しい喪失をもたらす。RP を排除することは、ターンアラウンドタイムを低減し、大規模に動作及び操作複雑性を排除し、費用を節約する。さらに、RP 中に使用される高温度が、mRNA の画分を加水分解することができるため、RP を排除することは、mRNA 発現レベルを増加させる。したがって、RP の必要性を排除するために mRNA 産物及び精製戦略を開発した。この実施例に提供される方法によって生成された mRNA は、「トリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * mRNA」と称され、それは、G 4 7 A * T 7 RNAP バリアント (G 4 7 A 置換及び追加の C 末端 G を有する) を使用するインビトロ転写アッセイにおいてトリヌクレオチド G p p p A 2' Ome p G で共転写でキャップされている mRNA である。

【0364】

この実施例では、ホタルルシフェラーゼ (ffL uc) をコードする mRNA の単回の 0.5 μg 用量を、MC3 脂質ナノ粒子中に配合し、6 週間 (1 日目、8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、及び 36 日目に) C57B1 / 6 マウス (n = 5) に毎週投与した。以下の mRNA を投与した。(1) NTP の等モル濃度の存在下で野生型 T7 ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴ dT 精製によって精製された非修飾 mRNA (化学 A プロセス 1 dT)、(2) GTP / ATP の過剰濃度の存在下で野生型 T7 ポリメラーゼを使用して生成され、逆相クロマトグラフィーによって精製されたショードウリジン修飾 mRNA (化学 B プロセス 2 RP)、(3) GTP / ATP の過剰濃度の存在下で野生型 T7 ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴ dT 精製によって精製されたショードウリジン修飾 mRNA (化学 B プロセス 2 dT)、(4) NTP の等モル濃度の存在下で野生型 T7 ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴ dT 精製によって精製されたショードウリジン修飾 mRNA (化学 B プロセス 1 dT)、(5) 逆相クロマトグラフィーによって精製されたショードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * mRNA (G 4 7 A * T 7 RNAP バリアントを使用してキャップ及び生成されたトリヌクレオチド) (化学 B プロセス 3 RP)、(6) オリゴ dT 精製によって精製されたショードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップ G 4 7 A * mRNA (化学 B プロセス 3 dT)、ならびに(7) G 4 7 A * T 7 RNAP バリアントを使用して生成され、オリゴ dT 精製によって精製されたキャップされていないショードウリジン修飾 mRNA (化学 B プロセス 4 dT)。各用量後 6 時間、以下を評価した：血清サイトカインレベル、mRNA 発現、及び抗 - PEG IgM レベル。B 細胞活性化を、36 日目の用量後 6 時間評価した。化学 A は、非修飾ウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示し、化学 B は、1 - メチル - シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示す。プロセス 1 は、IVT 及びワクシニアキャップ 1 における等モル NTP を指し、プロセス 2 は、4 : 2 : 1 : 1 の GTP : ATP : CTP : UTP (その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2018 年 3 月 22 日に公開された WO 2018 / 053209 A1 を参照のこと) 及びワクシニアキャップ 1 を含む IVT を指し、プロセス 3 は、IVT における等モル NTP 及び GAG を指し、プロセス 4 は、IVT 及びキャップなしにおける等モル NTP を指す。

【0365】

1 日目及び 29 日目のマウスにおける血清サイトカイン評価 (IP - 10) からの結果を、図 27A 及び図 27B に表し、トリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * mRNA が、インビボで血清サイトカインレベルを誘発し、アルファ mRNA 対照と同様であることを示す。結果は、mRNA が、BJヒト線維芽細胞 (図 28A) 及び単球由来マクロファージ (MDM) (図 28B) に送達されたインビトロ実験について同様であった。

【0366】

10

20

30

40

50

mRNA発現研究(図29)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、6回の隔週用量後にインビボで高い発現を維持したことを示した。

【0367】

抗-P EG IgM評価(図30)は、N1UトリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、6回の隔週用量後に低い抗-P EG IgMレベル生成したことを示した。

【0368】

B細胞活性化分析(図31)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAでトランスフェクトされた脾臓B細胞の活性化が低く、アルファmRNA対照と同様であったことを示した。

10

【0369】

まとめると、これらの結果は、RP精製されていないffL ucをコードするトリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、ベースラインを超えてサイトカイン応答を誘発せず、インビボで低い抗-P EG IgMレベルを維持し、低いB細胞活性化を呈することを示す。

【0370】

実施例15.ヒトエリスロポエチンをコードするトリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAの繰り返し投与の評価

この実施例では、ヒトエリスロポエチン(hEPO)をコードするmRNAの単回の0.5mpk用量を、MC3脂質ナノ粒子中に配合し、6週間(1日目、8日目、15日目、22日目、29日目、及び36日目に)C57BL/6マウス(n=5)に毎週投与した。以下のmRNAを投与した。(1)NTPの等モル濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製された非修飾mRNA(化学Aプロセス1dT)、(2)GTP/ATPの過剰濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、逆相クロマトグラフィーによって精製されたシードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス2RP)、(3)GTP/ATPの過剰濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製されたシードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス2dT)、(4)NTPの等モル濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製されたシードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス1dT)、(5)逆相クロマトグラフィーによって精製されたシードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNA(G47A*T7RNAPバリアントを使用してキャップ及び生成されたトリヌクレオチド)(化学Bプロセス3RP)、(6)オリゴdT精製によって精製されたシードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップG47A*mRNA(化学Bプロセス3dT)、ならびに(7)G47A*T7RNAPバリアントを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製されたキャップされていないシードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス4dT))。各用量後6時間、以下を評価した:血清サイトカインレベル、mRNA発現、及び抗-P EG IgMレベル。B細胞活性化を、36日目の用量後6時間評価した。化学Aは、非修飾ウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示し、化学Bは、1-メチル-シードウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示す。プロセス1は、IVT及びワクシニアキャップ1における等モルNTPを指し、プロセス2は、4:2:1:1のGTP:ATP:CTP:UTP及びワクシニアキャップ1を含むIVTを指し、プロセス3は、IVTにおける等モルNTP及びGAGを指し、プロセス4は、IVT及びキャップなしにおける等モルNTPを指す。

20

【0371】

1日目及び22日目のマウスにおける血清サイトカイン評価(IP-10)からの結果を、図32A及び図32Bに表し、トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、インビボで血清サイトカインレベルを誘発し、アルファmRNA対照と同様であることを示す。結果は、mRNAが、BJヒト線維芽細胞(図33A)及び単球由来マクロファージ(MDM)(図33B)に送達されたインビトロ実験について同様であった。

30

40

50

【0372】

mRNA発現研究(図34)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、6回の隔週用量後にインビボで高い発現を維持したことを示した。

【0373】

抗-P EG IgM評価(図35)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、6回の隔週用量後に低い抗-P EG IgMレベル生成したことを示した。

【0374】

B細胞活性化分析(図36)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAでトランスフェクトされた脾臓B細胞の活性化が低く、アルファmRNA対照と同様であったことを示した。

10

【0375】

まとめると、これらの結果は、RP精製されていないh E POをコードするトリヌクレオチドキャップされたG47A*mRNAが、ベースラインを超えてサイトカイン応答を誘発せず、インビボで低い抗-P EG IgMレベルを維持し、低いB細胞活性化を呈することを示す。

【0376】**実施例16. インデル頻度及び点変異頻度の評価**

mRNAを、プロセス1(等モルNTP)またはプロセス2(4:2:1:1のGTP:A TP:C TP:UTP)を使用してWTまたはG47A*酵素のいずれかで調製した。次世代シーケンシング(NGS)について、mRNAを、逆転写酵素によってcDNAに変換し、アダプターをライゲーションしてシーケンシングライブリを準備した。NGSデータを、親配列と比較し、観察された任意のインデルを表にした。インデル頻度は、WT及びG47A*に匹敵した(図37A)。同様に、NGSデータを、任意の点変異について分析した。点変異頻度は、WT及びG47A*に匹敵した(図37B)。

20

【0377】

本明細書に開示されるすべての参考文献、特許、及び特許出願は、各々が示される主題に関して参照により組み込まれ、いくつかの場合において、それは書類の全体を包含し得る。

【0378】

明細書及び特許請求の範囲において本明細書で使用されるように、不定冠詞「a」及び「an」は、明らかに矛盾する記載がない限り、「少なくとも1つ」を意味するものとして理解されるべきである。

30

【0379】

明らかに矛盾する記載がない限り、1を超えるステップまたは行為を含む本明細書に請求されるあらゆる方法において、方法のステップまたは行為の順番は、方法のステップまたは行為が言及されているその順番に必ずしも限定されない。

【0380】

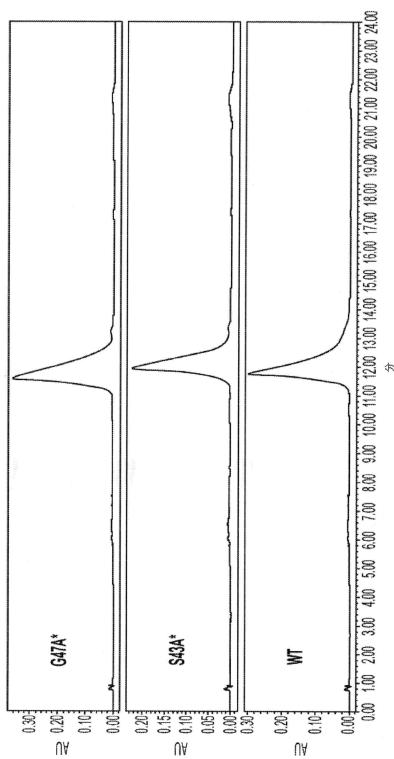
特許請求の範囲、ならびに上の明細書において、「含む(comprising)」、「含む(including)」、「有する(carrying)」、「有する(having)」、「含む(containing)」、「含む(involved)」、「有する(holding)」、「から構成される(composed of)」などのすべての移行句は、無制限、すなわち、含むが限定されないと意味すると理解されたい。「からなる」及び「から本質的になる」の移行句のみが、the United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03に示されるように、それぞれ閉鎖または半閉鎖的移行句であるものとする。

40

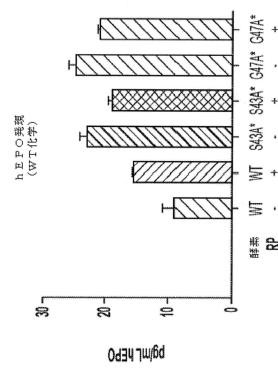
50

【図面】

【図 1】

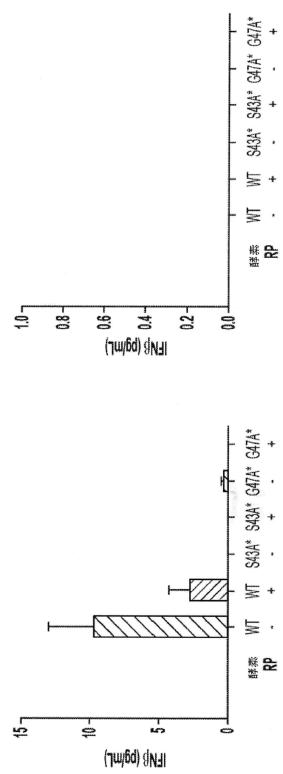


【図 2】

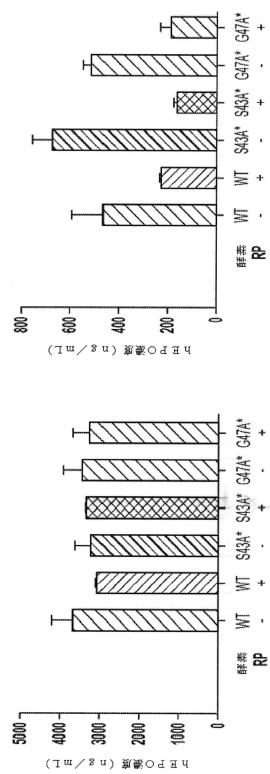


10

【図 3】



【図 4】



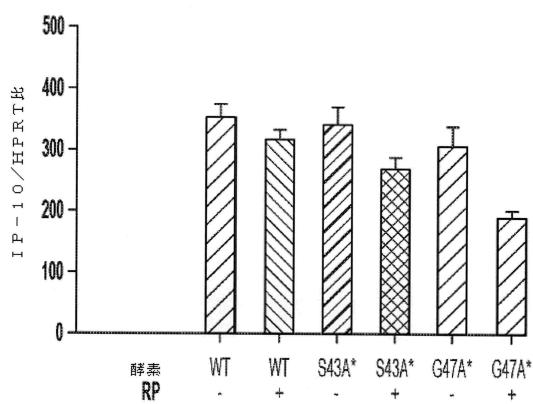
20

30

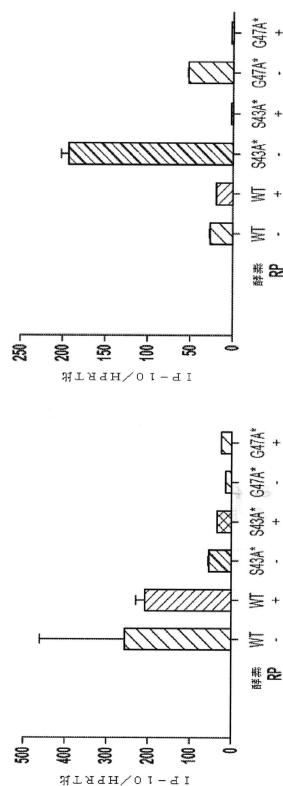
40

50

【図 5】



【図 6】

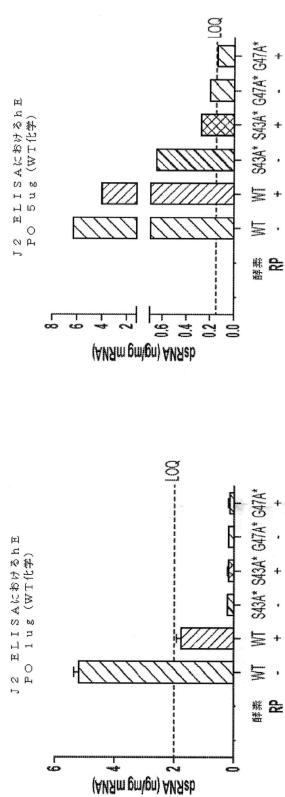


10

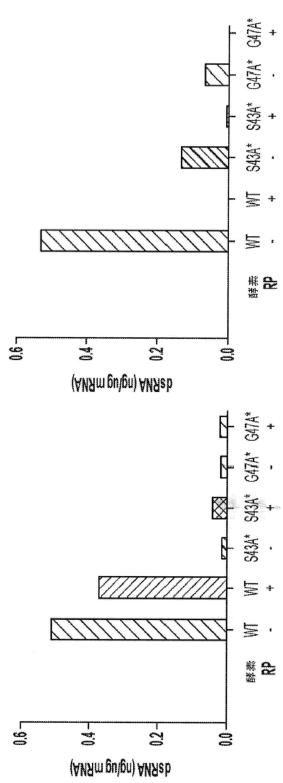
20

30

【図 7】



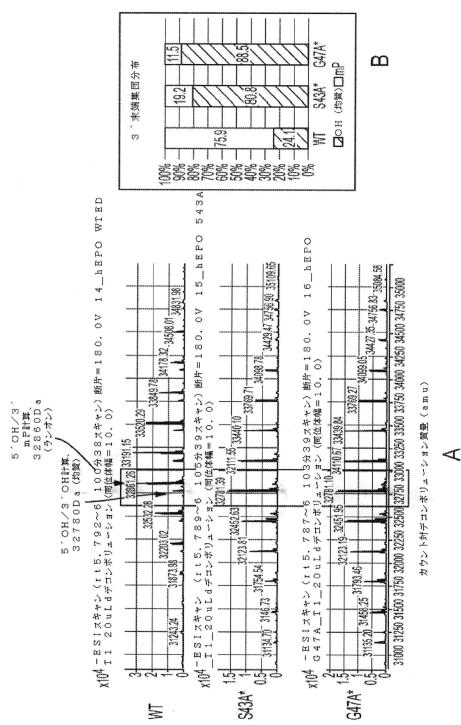
【図 8】



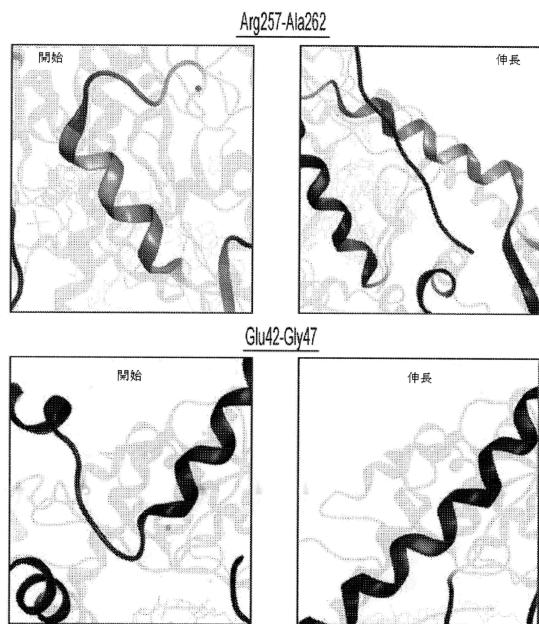
40

50

【図 9】



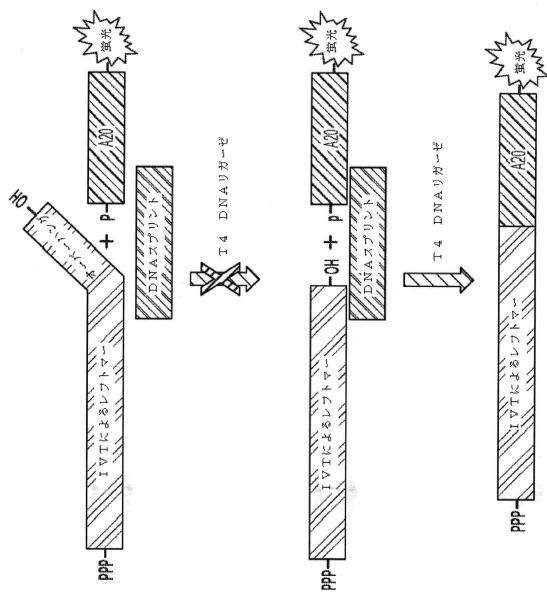
【図 10】



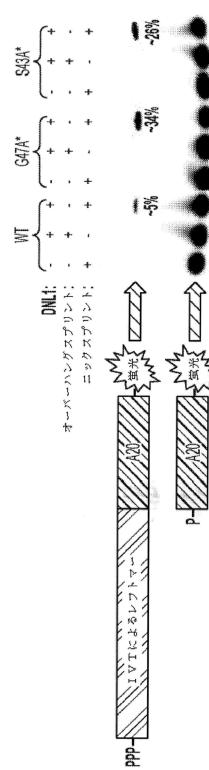
10

20

【図 11 A】



【図 11 B】

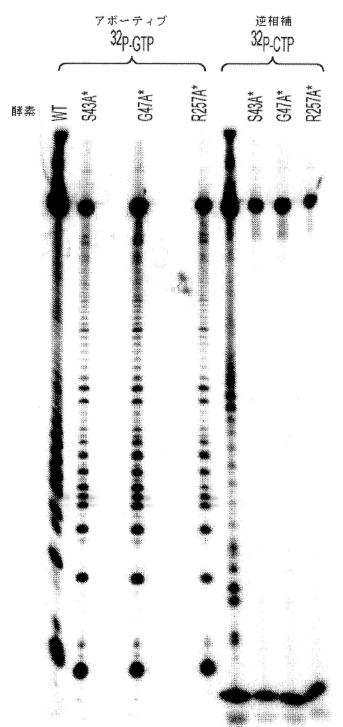


30

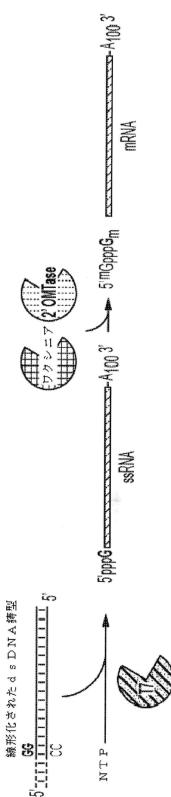
40

50

【図 1 2】



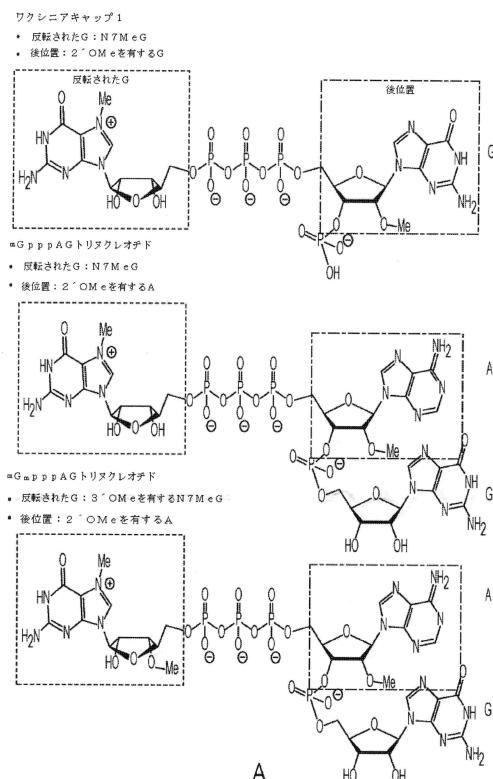
【図 1 3】



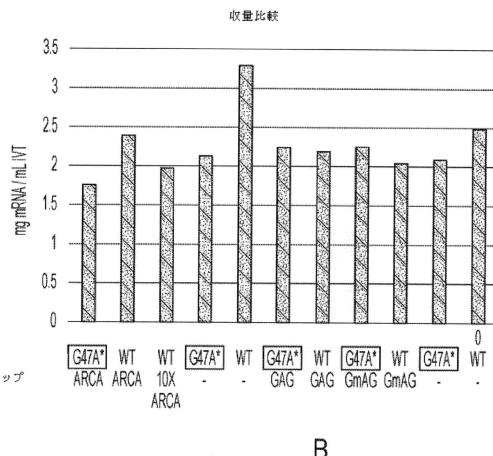
10

20

【図 1 4 - 1】



【図 1 4 - 2】

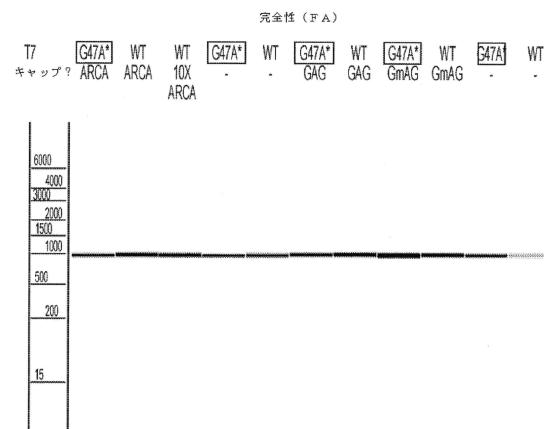


30

40

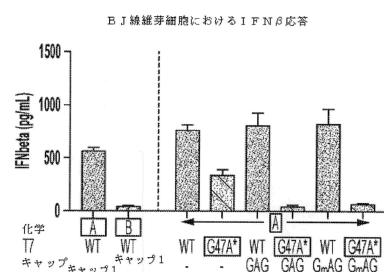
50

【図 14-3】



C

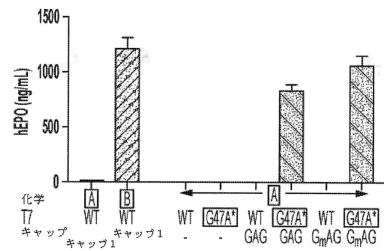
【図 14-4】



D

10

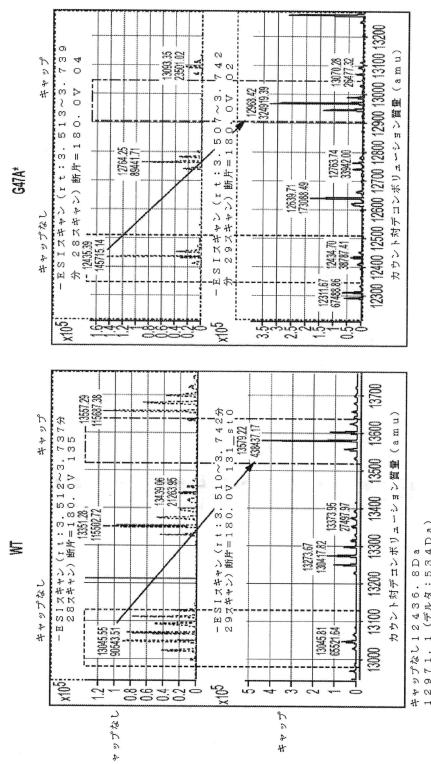
B J 細胞における hEPO 発現



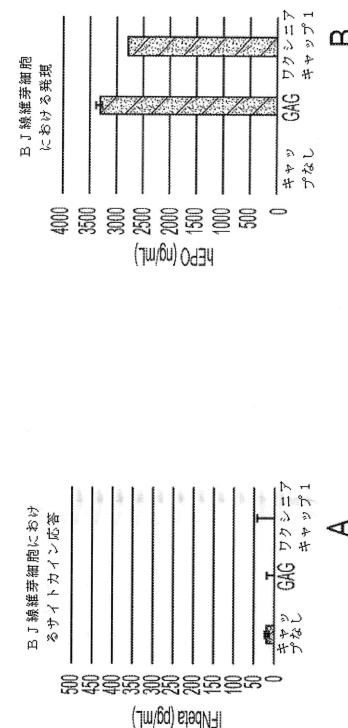
E

20

【図 15】



【図 16】



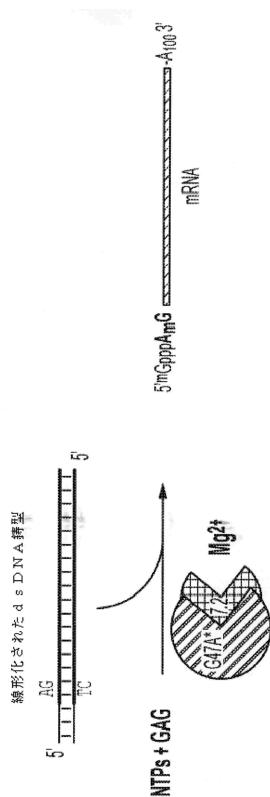
B

30

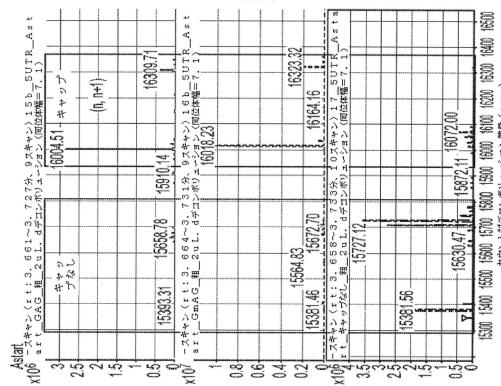
40

50

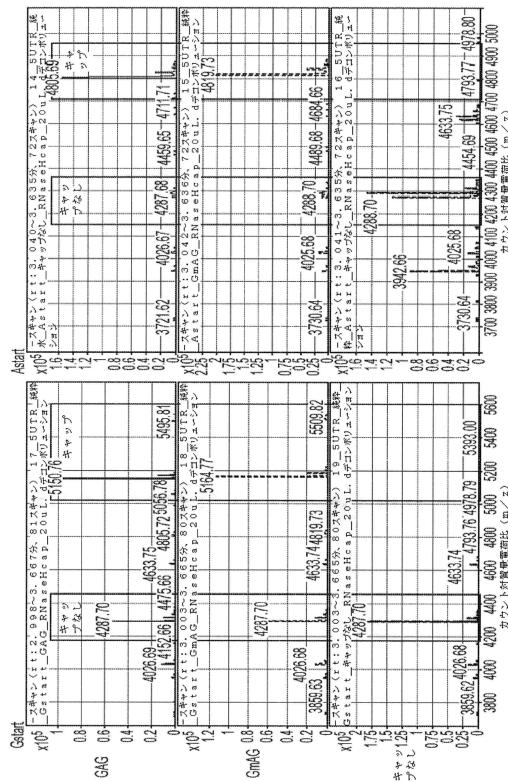
【図17】



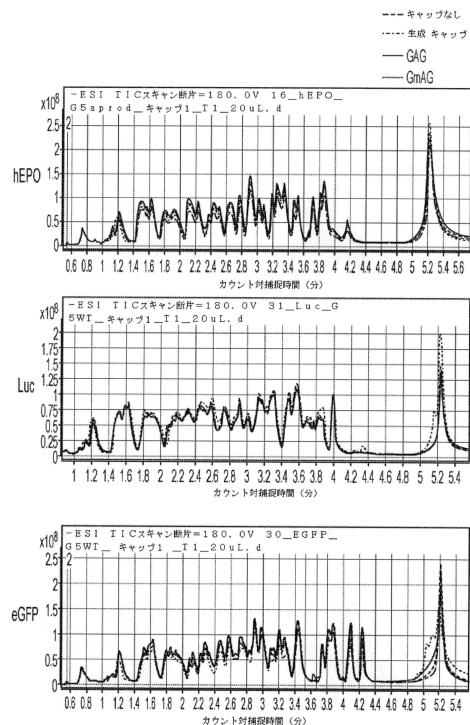
【図18A】



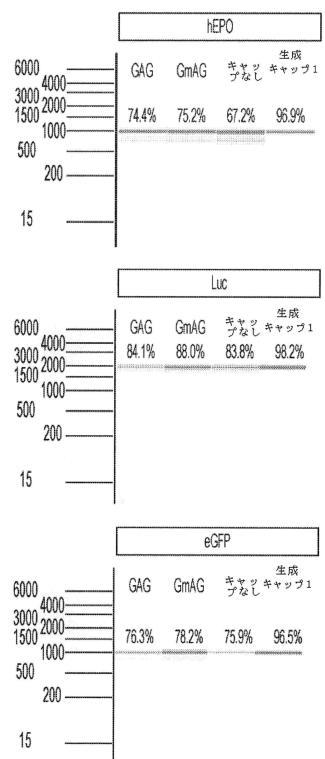
【図18B】



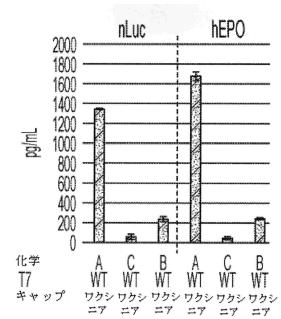
【図19A】



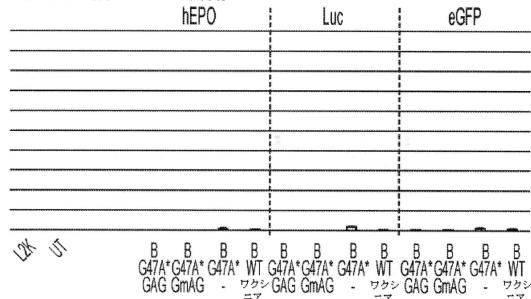
【図 19B】



【図 19C】

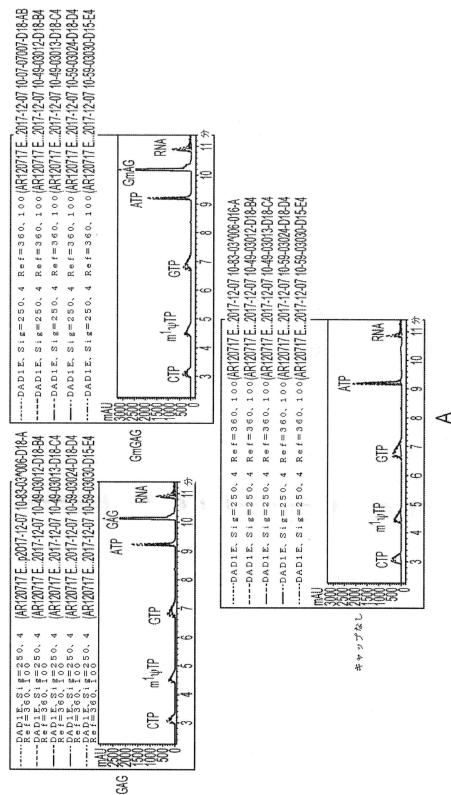


10

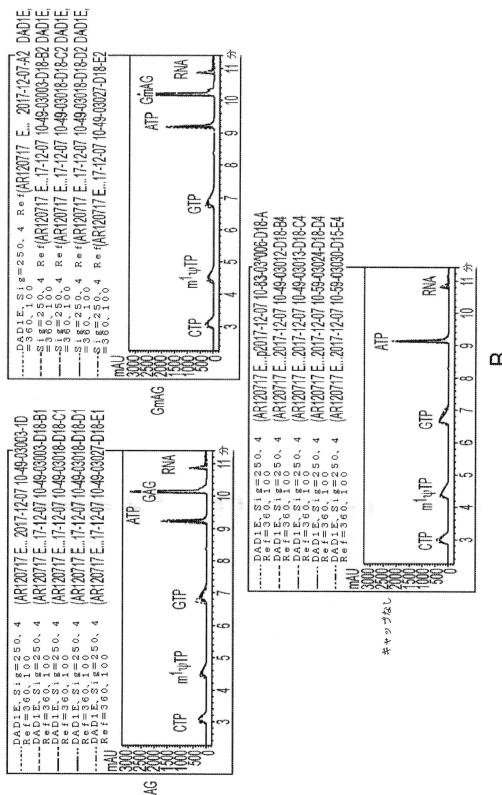
B J F、48時間でのIFN- β 発現

20

【図 20-1】



【図 20-2】

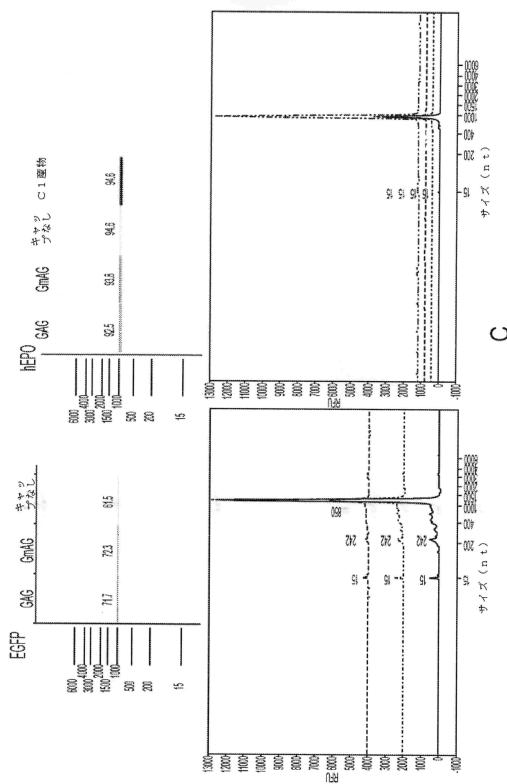


30

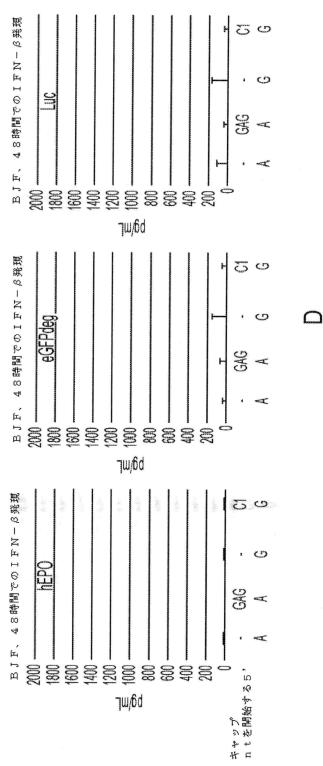
40

50

【図 20 - 3】



【図 20 - 4】



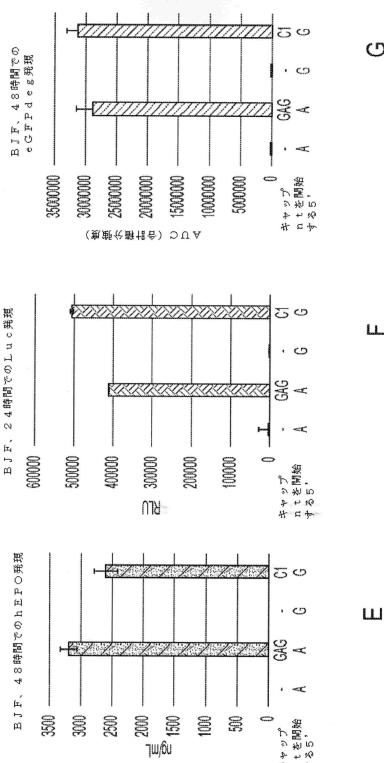
10

20

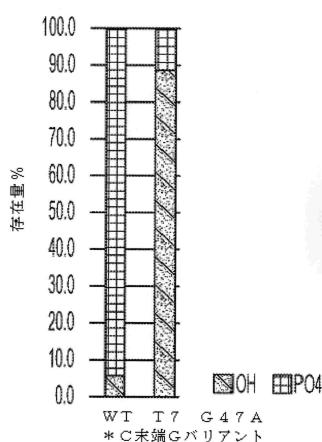
30

40

【図 20 - 5】

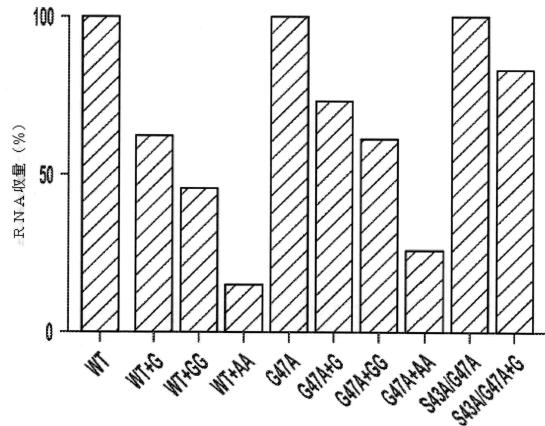


【図 21】

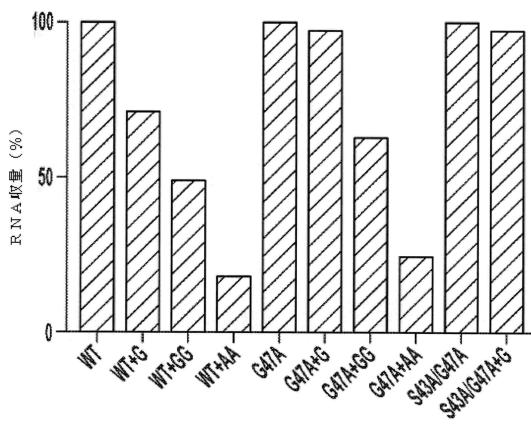


50

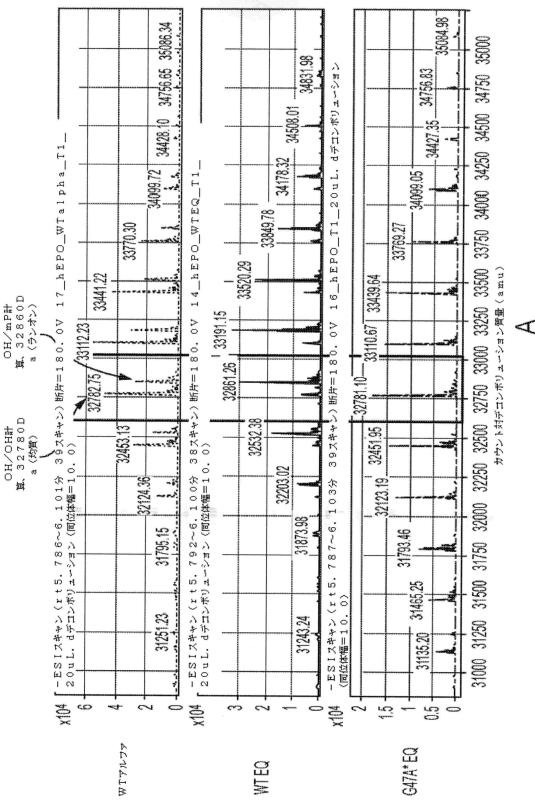
【図 2 2】



【図 2 3】

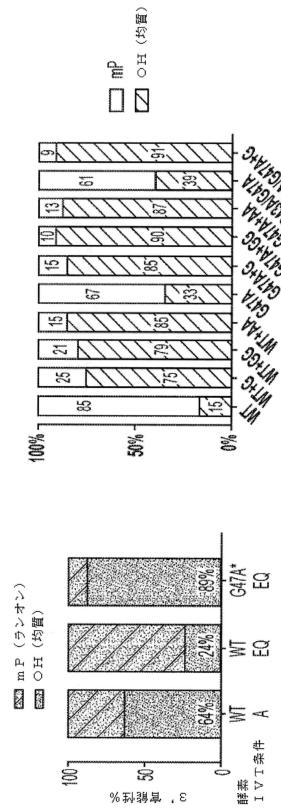


【図 2 4 - 1】



A

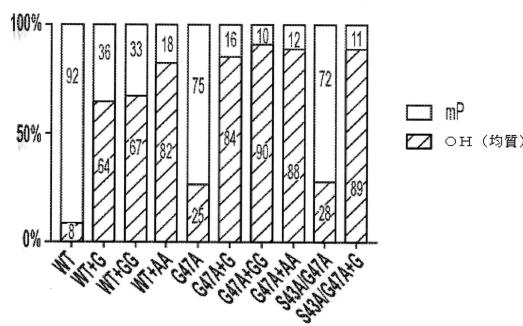
【図 2 4 - 2】



C

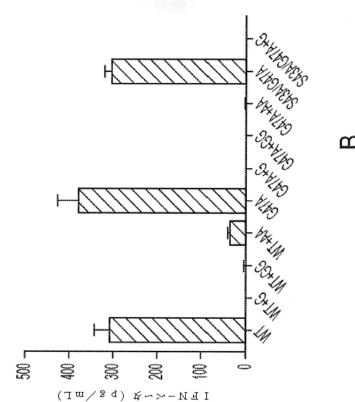
B

【図 24 - 3】



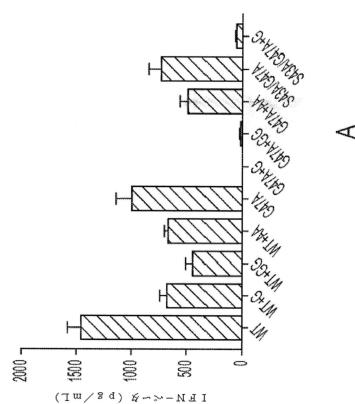
D

【図 25】



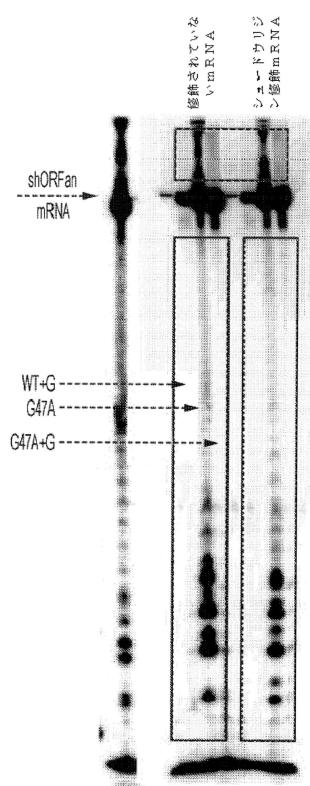
B

10

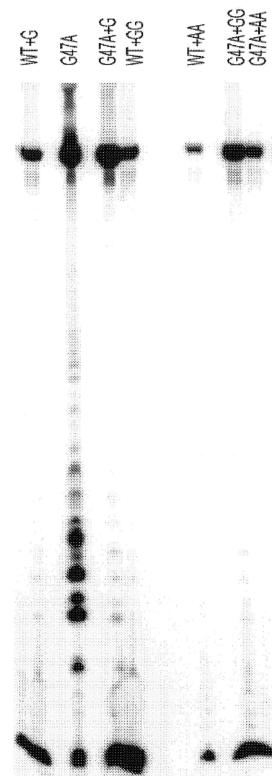


20

【図 26 A】



【図 26 B】

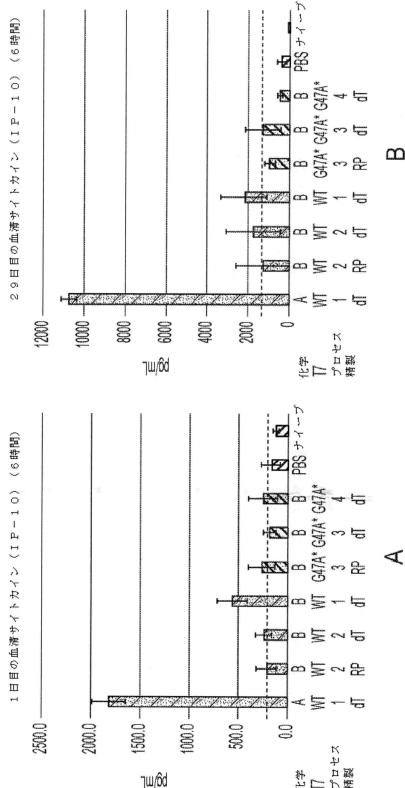


30

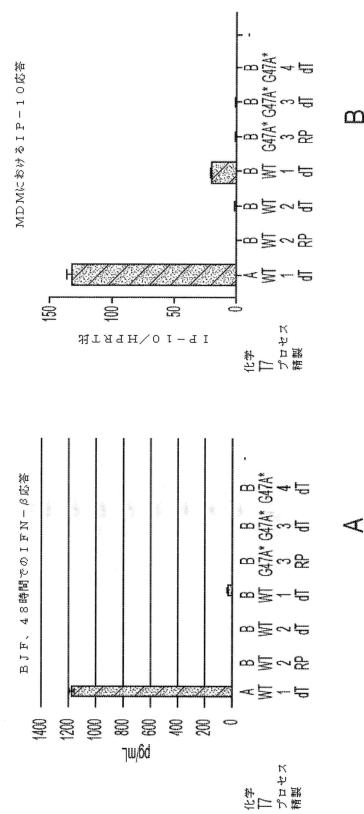
40

50

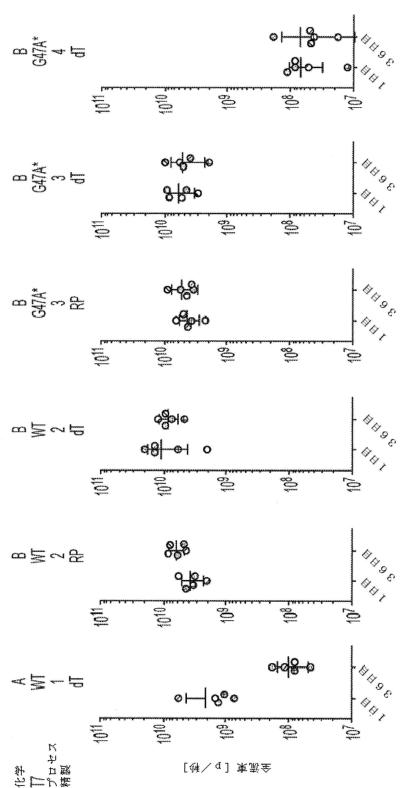
【図 27】



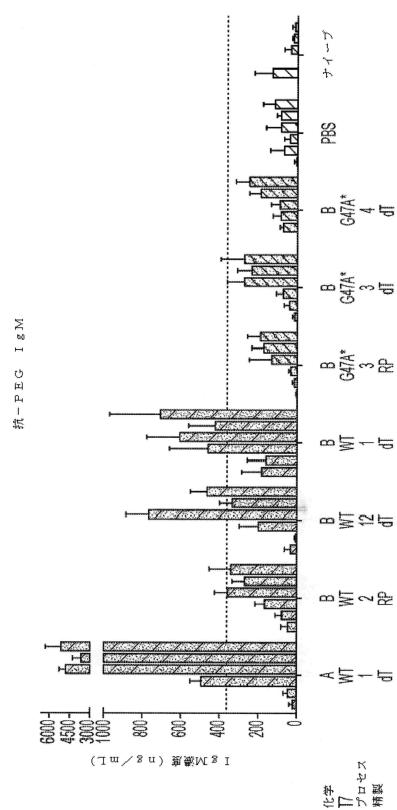
【図 28】



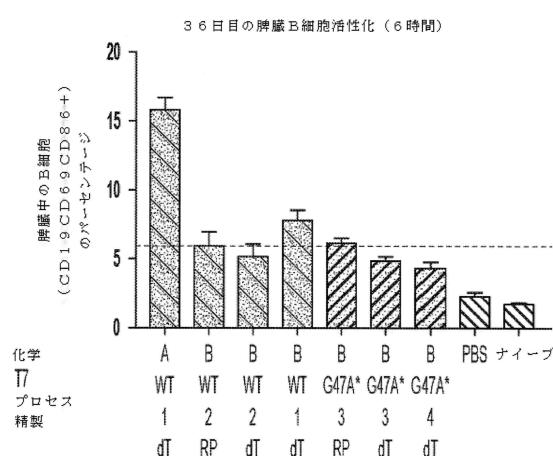
【図 29】



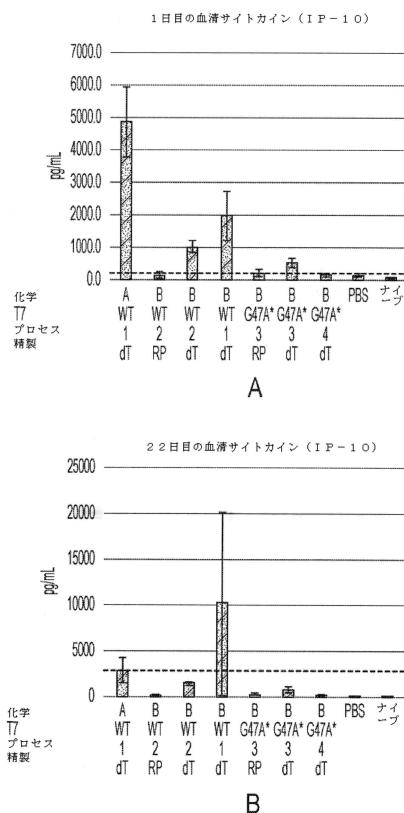
【図 30】



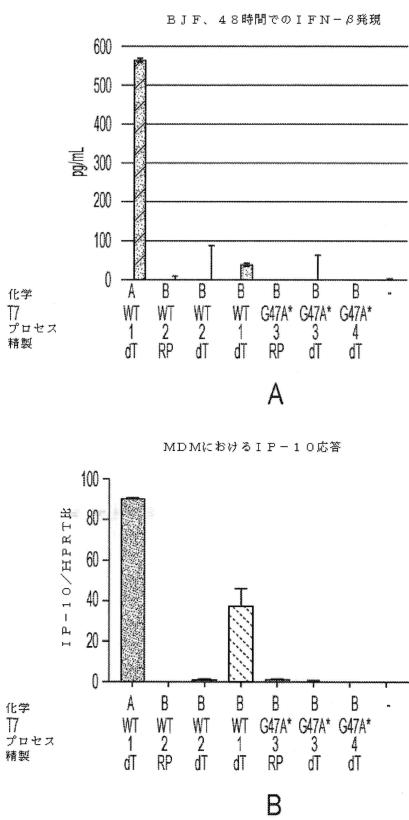
【図 3 1】



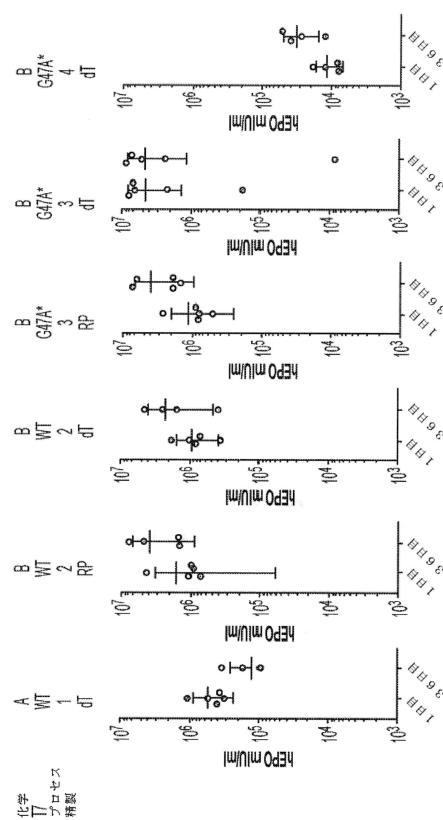
【図 3 2】



【図 3 3】

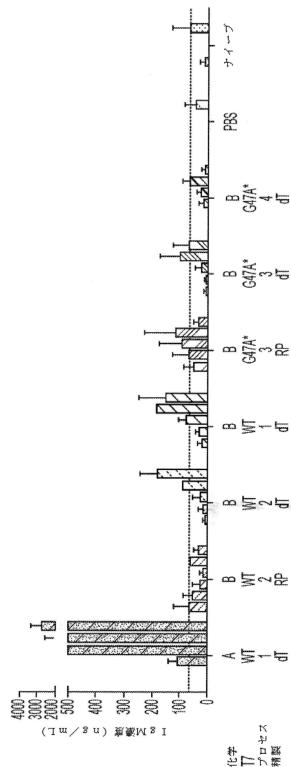


【図 3 4】

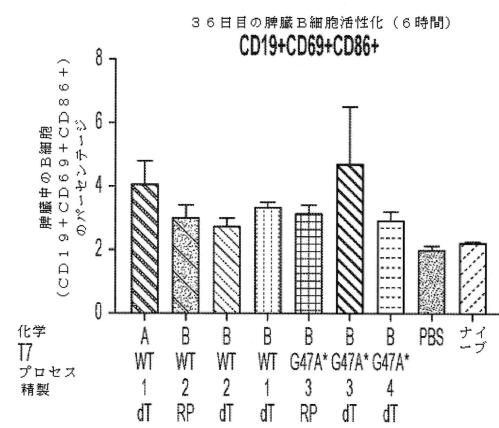


10
20
30
40
50

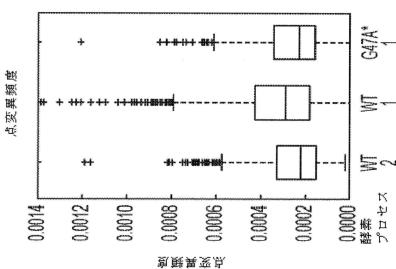
【図35】



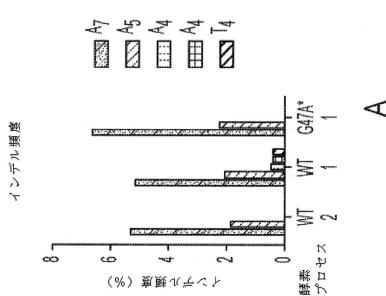
【図36】



【図37】



2



10

20

30

40

50

【配列表】

0007408098000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31) 優先権主張番号 62/638,684

(32) 優先日 平成30年3月5日(2018.3.5)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31) 優先権主張番号 62/677,527

(32) 優先日 平成30年5月29日(2018.5.29)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

(72) 発明者 アサンシオス・ドウシス

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02139・ケンブリッジ・フランクリン・ストリート・3
48・#4ビー

(72) 発明者 カンチャナ・ラヴィチャンドラン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02139・ケンブリッジ・マサチューセッツ・アヴェニュー
ー・950・アパートメント・420

(72) 発明者 エリサ・ホバート

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02140・ケンブリッジ・リング・アヴェニュー・205
ビー

審査官 福澤 洋光

(56) 参考文献 国際公開第2017/123748 (WO, A1)

特開2011-223982 (JP, A)

The Journal of Biological Chemistry, 2007年, Vol.282, No.31, pp.22879-22886

(58) 調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 12 N 1 / 00 - 15 / 90

C 12 Q 1 / 00 - 3 / 00

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

U n i P r o t / G e n e S e q

P u b M e d